

Aus dem Pathologisch-Anatomischen Institut  
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg  
( Direktor: Prof. Dr. med. V. Becker)

---

IMMUNFLUORESCENZMIKROSKOPISCHE  
UNTERSUCHUNGEN AM EXOKRINEN  
PANKREAS DES MENSCHEN

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Alexander-Universität  
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von

Thomas Weber

aus Berlin

1903

1984 #290



Aus dem Pathologisch-Anatomischen Institut  
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg  
( Direktor: Prof. Dr. med. V. Becker)

---

# IMMUNFLUORESCENZMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN AM EXOKRINEN PANKREAS DES MENSCHEN

## Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Alexander-Universität  
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von

Thomas Weber

aus Berlin

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät  
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. habil. K. Richter

Korreferent: Prof. Dr. med. V. Becker

Tag der mündlichen Prüfung: 09. 07. 1984

Meinen Eltern gewidmet

## Inhaltsverzeichnis

|                                                                                       | Seite |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1. <u>Einleitung</u>                                                                  | 1     |
| 2. <u>Material und Methode</u>                                                        | 2     |
| 2.1. Patientenseren                                                                   | 2     |
| 2.2. Gewebe aus Pankreaten und Kontrollorganen<br>(Herz, Leber, Skelettmuskel)        | 6     |
| 2.3. Antiseren                                                                        | 12    |
| 2.4. Indirekte Immunfluoreszenz                                                       | 12    |
| 2.5. Lasernephelometrie                                                               | 15    |
| 2.6. Vorversuche                                                                      | 14    |
| 3. <u>Eigene Untersuchungen</u>                                                       | 18    |
| 4. <u>Ergebnisse</u>                                                                  | 21    |
| 4.1. <u>Ergebnisse der Lasernephelometrie</u><br><u>(Ig-Titer der Patientenseren)</u> | 21    |
| 4.1.1. Seren von Patienten mit chronischer<br>Pankreatitis (Untersuchungsgruppe)      | 21    |
| 4.1.2. Seren von Patienten ohne Pankreas-<br>erkrankungen (Kontrollgruppe)            | 22    |
| 4.2. <u>Ergebnisse der Immunfluoreszenzunter-</u><br><u>suchungen</u>                 | 24    |
| 4.2.1. Seren von Patienten mit chronischer<br>Pankreatitis (Untersuchungsgruppe)      | 24    |
| 4.2.2. Seren von Patienten ohne Pankreas-<br>erkrankungen (Kontrollgruppe)            | 63    |

5. Diskussion

70

|        |                                                                                           |     |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.1.   | <u>Aufbau und Arbeitsweise des menschlichen Immunsystems</u>                              | 70  |
| 5.1.1. | Zelluläre Immunität - Thymusabhängiges Immunsystem - T-Lymphozyten                        | 71  |
| 5.1.2. | Humorale Immunität - Thymusunabhängiges Immunsystem - B-Lymphozyten                       | 74  |
| 5.1.3. | Antikörperklassen                                                                         | 76  |
| 5.1.4. | Das Komplementsystem                                                                      | 81  |
| 5.1.5. | Antigene                                                                                  | 83  |
| 5.1.6. | Histokompatibilitätsantigene, Transplantationsimmunität                                   | 85  |
| 5.1.7. | Pathogene Immunreaktionen, die vier Grundtypen                                            | 87  |
| 5.1.8. | Immuntoleranz, Autoimmunisierung, Autoantigene, Autoaggressionskrankheiten                | 93  |
| 5.2.   | <u>Grundlagen und Aussagefähigkeit der Immunfluoreszenztechniken</u>                      | 100 |
| 5.2.1. | Primär- und Sekundärfluoreszenz                                                           | 100 |
| 5.2.2. | Prinzipien und Methoden der direkten und indirekten Immunfluoreszenz                      | 101 |
| 5.2.3. | Nomenklatur der Fluoreszenzerscheinungen                                                  | 103 |
| 5.2.4. | Fluoreszenzfarbstoffe                                                                     | 104 |
| 5.2.5. | Aussagefähigkeit der Immunfluoreszenz                                                     | 105 |
| 5.2.6. | Kontrollen bei indirekten und direkten Immunfluoreszenzmethoden                           | 109 |
| 5.2.7. | Kontrollen bei den eigenen Untersuchungen                                                 | 110 |
| 5.2.8. | Mikroskopie und Photographie                                                              | 111 |
| 5.3.   | <u>Bisherige Erkenntnisse über immunpathologische Veränderungen am exokrinen Pankreas</u> | 112 |

|        |                                                                                                                                               |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.4.   | <u>Diskussion der eigenen Untersuchungs-<br/>ergebnisse</u>                                                                                   | 149 |
| 5.4.1. | Immunglobulinspiegel in Untersuchungs- und Kontrollgruppe                                                                                     | 149 |
| 5.4.2. | Immunfluoreszenzreaktionen der Untersuchungsseren am homologen exokrinen Pankreas und an den Kontrollorganen (Herz, Leber, Skelettmuskel)     | 155 |
| 5.4.3. | Besonderheiten bei Seren mit Immunglobulinerhöhungen bzw. bei Seren von Patienten mit kalzifizierenden oder akut exazerbierten Pankreatitiden | 172 |
| 5.4.4. | Immunfluoreszenzreaktionen der Kontrollseren                                                                                                  | 175 |
| 5.5.   | <u>Schlußfolgerung</u>                                                                                                                        | 177 |
| 5.6.   | <u>Zusammenfassung</u>                                                                                                                        | 181 |
| 6.     | <u>Literatur</u>                                                                                                                              | 187 |

## 1. Einleitung

Die Ätiologie eines Teils der chronischen Pankreatitiden des Menschen ist ungeklärt. Diese sogenannten idiopathischen Pankreatitiden werden abhängig von geographischen und individualspezifischen Faktoren in ihrer Häufigkeit auf 10 - 70 % geschätzt. Vor allem innerhalb dieser Gruppe der Pankreas-erkrankungen bestehen Hinweise auf die Möglichkeit einer immunpathologischen, etwa autoimmunologischen Genese. So ergaben z.B. klinische Untersuchungen am Pankreassaft Änderungen des Immunglobulinspiegels bei chronischer Pankreatitis. Außerdem sprechen verschiedene tierexperimentelle Untersuchungen für eine derartige Ätiologie.

Um zu prüfen, inwieweit immunpathologische Prozesse für den Verlauf chronischer Pankreatitiden von Bedeutung sein können, haben wir in den Seren von Patienten mit klinisch gesicherter chronischer Pankreatitis die Spiegel der Immunglobuline IgA, IgG und IgM bestimmt, und sodann untersucht, ob sich zwischen diesen Seren und normalem homologen Pankreasgewebe Antigen-Antikörper-Reaktionen abspielen.

Dazu bedienten wir uns zur Bestimmung der Immunglobulintiter der Lasernephelometrie, das Bindungsvermögen der Seren am homologen Pankreas wurde mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenz untersucht. Zur Kontrolle wurde mit den Seren von Patienten ohne Pankreaserkrankungen in gleicher Weise verfahren.



## 2. Material und Methode

### 2.1. Patientenseren

Die Bindungsfähigkeiten von in den untersuchten Patientenseren enthaltenen Immunglobulinen wurden an 5 - 8 um dicken Kryostatschnitten von homologem Pankreasgewebe geprüft. Um Blutgruppenunverträglichkeitsreaktionen zu vermeiden, wurden die Seren jeweils auf Organen von Individuen der gleichen Blutgruppe oder der Blutgruppe O Rh+ inkubiert. Das Gewebe wurde während der Obduktion von Leichen entnommen, deren Pankreaten makroskopisch keine auffälligen Veränderungen, etwa im Sinne einer chronischen Entzündung, zeigten. Als Kontrollen wurden außerdem jeweils Schnitte von Herz, Skelettmuskel und Leber angefertigt und genauso behandelt wie die Pankreaten. Dadurch sollte festgestellt werden, ob eventuell im Patientenserum (PS) vorhandene Antikörper (Ak) spezifisch gegen Pankreas gerichtet sind, oder auch Bindungsfähigkeit an andere Gewebsarten zeigen. Außerdem wurden als Kontrollen bei jedem Organ Nativschnitte angefertigt, die weder mit PS noch mit Antiseren (AS) inkubiert wurden, sowie Schnitte, die lediglich mit PS oder AS, nicht jedoch mit beiden Seren zusammen inkubiert wurden. An diesen Schnitten hätten sich z.B. auf Eigenfluoreszenz der Gewebe oder auf unspezifischen Färbungen beruhende falsch positive Ergebnisse erkennen lassen (siehe dazu 5.2.: Grundlagen und Aussagefähigkeit der Immunfluoreszenz).

Überschichtet wurden die verschiedenen Schnitte mit Seren von 27 Patienten der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen, bei denen eine chronische Pankreatitis klinisch sicher diagnostiziert war. Von insgesamt 31 gesammelten Seren von 31 Patienten konnten aus technischen Gründen vier Seren

nicht verwendet werden. Von den 27 Patienten litten 8 an chronisch kalzifizierender Pankreatitis, 14 an chronischen bzw. chronisch rezidivierenden Pankreatitiden, 5 hatten zum Zeitpunkt der Blutentnahme gerade akute Schübe einer chronischen Pankreatitis oder eine akut rezidivierende Pankreatitis durchgemacht. Als Kontrollgruppe dienten die Seren von 5 Patienten, bei denen eine Erkrankung des Pankreas ausgeschlossen war. Alle Seren wurden dankenswerterweise mit Einverständnis von Herrn Prof. Dr. DEMLING sowie von Herrn Priv.-Doz. Dr. RIEMANN zur Verfügung gestellt.

Eine Auflistung der untersuchten Seren mit Angaben über Geschlecht des Patienten, Blutgruppe, Titer der Immunglobuline A, G und M sowie mit dem diagnostizierten Typ der chronischen Pankreatitis ist in Tab. 1 gegeben. Tab. 2 zeigt die entsprechenden Daten der 5 Patienten ohne chronische Pankreatitis, die die Kontrollgruppe darstellten.

Die Seren der Untersuchungsgruppe stammten von 10 Frauen und 17 Männern. Das durchschnittliche Alter lag bei den weiblichen Patienten bei 38,6 Jahren, wobei die jüngste Patientin 26, die älteste 58 Jahre alt war; bei den Männern war das Durchschnittsalter 37,5 Jahre, der jüngste Patient war 20, der älteste 51 Jahre alt.

Nach der Entnahme vom Patienten wurden alle Seren im Institut für Klinische Immunologie und Rheumatologie der Universität Erlangen (Direktor: Prof. Dr. KALDEN) mittels der Laser-Nephelometrie auf ihre Immunglobulinspiegel untersucht. Geprüft wurden IgA, IgG und IgM. Dabei ergaben sich in der Untersuchungsgruppe bei den Seren von 7 Männern und 2 Frauen Erhöhungen der Immunglobuline. Eins der Seren zeigte eine Erniedrigung von IgM (siehe Tab. 1, 2 und 6).

Von den 5 Seren der Kontrollgruppe waren 4 von Frauen, eines stammte von einem 83jährigen Mann. Das Durchschnittsalter der weiblichen Patienten der Kontrollgruppe war 61,25 Jahre, wobei die älteste Patientin 77, die jüngste 46 Jahre alt war. Das Serum des Mannes zeigte eine leichte IgA-Erhöhung, während ein Serum der weiblichen Kontrollpatienten leichte IgA- und IgM-Erniedrigung aufwies.

|     |         |                     |                                   |       | AK - Titer in mg / dl |          |          |        |
|-----|---------|---------------------|-----------------------------------|-------|-----------------------|----------|----------|--------|
|     |         |                     |                                   |       | Norm                  | 90-350   | 800-1800 | 60-280 |
| Nr. | Geschl. | Blutgruppe          | Diagnose                          | Alter | IgA                   | IgG      | IgM      |        |
| 1   | ♀       | A <sub>1</sub> Rh + | Chr. rez. Pank.                   | 29    | n                     | n        | n        |        |
| 3   | ♀       | A <sub>1</sub> Rh + | Chr. P'itis                       | 55    | n                     | n        | n        |        |
| 4   | ♀       | B <sub>1</sub> Rh + | Ak. Schub                         | 58    | n                     | n        | 593(++)  |        |
| 5   | ♂       | 0 Rh +              | Chr. rez. P'itis                  | 39    | 390(+)                | n        | n        |        |
| 8   | ♂       | 0 Rh +              | Chr. P'itis, M. Crohn             | 44    | n                     | n        | n        |        |
| 9   | ♀       | 0 Rh +              | Ak. Schub                         | 33    | n                     | n        | n        |        |
| 10  | ♂       | 0 Rh +              | Chr. kal. P'itis, Zyste           | 34    | n                     | n        | n        |        |
| 11  | ♂       | 0 Rh +              | Ak. rez. P'itis                   | 24    | n                     | n        | n        |        |
| 12  | ♀       | 0 Rh +              | Chr. P'itis, Mult. Zy.            | 40    | n                     | n        | n        |        |
| 13  | ♀       | A <sub>1</sub> rh - | Chr. kalz. P'itis                 | 36    | n                     | n        | n        |        |
| 14  | ♂       | 0 Rh +              | Chr. P'itis                       | 34    | n                     | n        | n        |        |
| 15  | ♂       | A <sub>1</sub> Rh + | Chr. P'itis                       | 44    | n                     | n        | n        |        |
| 16  | ♀       | A <sub>1</sub> Rh + | Chr. kal. P'itis                  | 36    | n                     | n        | n        |        |
| 17  | ♂       | 0 rh -              | Chr. kal. P'itis                  | 40    | n                     | n        | n        |        |
| 18  | ♂       | A <sub>2</sub> Rh + | Chr. rez. P'itis                  | 44    | 675(++)               | 1966(+)  | n        |        |
| 19  | ♂       | A <sub>1</sub> Rh + | Chr. P'itis                       | 42    | 385(+)                | n        | n        |        |
| 20  | ♀       | A <sub>2</sub> rh - | Chr. kal. P'itis                  | 38    | n                     | n        | n        |        |
| 21  | ♂       | 0 Rh +              | Chr. kal. P'itis                  | 39    | n                     | n        | n        |        |
| 22  | ♂       | 0 Rh +              | Chr. kal. P'itis                  | 40    | 558(++)               | n        | n        |        |
| 23  | ♀       | AB Rh +             | Ak. Schub                         | 35    | n                     | n        | 57(+)    |        |
| 24  | ♀       | A <sub>1</sub> Rh + | Chr. P'itis                       | 26    | n                     | n        | 394(++)  |        |
| 26  | ♂       | 0 Rh +              | Chr. rez. P'itis                  | 51    | n                     | n        | n        |        |
| 27  | ♂       | A <sub>2</sub> Rh + | Chr. kal. P'itis                  | 38    | n                     | n        | n        |        |
| 28  | ♂       | AB Rh +             | Chr. rez. P'itis                  | 35    | n                     | 2010(+)  | n        |        |
| 29  | ♂       | 0 rh -              | Chr. P'itis, P'pseudozy.          | 29    | n                     | 2131(++) | 361(+)   |        |
| 30  | ♂       | 0 Rh +              | Ak. rez. P'itis                   | 20    | n                     | n        | n        |        |
| 31  | ♂       | AB Rh +             | Chr. rez. P'itis,<br>Pseudozysten | 40    | 370(+)                | n        | n        |        |

Tab. 1: Untersuchungsgruppe, Seren von Patienten mit chronischer Pankreatitis  
(Seren Nr. 2, 6, 7, 25 aus technischen Gründen nicht verwertbar)

n = im Normbereich, ↑ = mittelgradig erhöht bzw.  
↓ = erniedrigt, ↑↑ = stark erhöht, AK - Titer =  
Antikörper - Titer

Die Absolutwerte der ermittelten AK - Titer in mg/dl werden nur bei Normabweichungen angegeben

|     |         |                     |                              |       | AK - Titer in mg / dl |        |          |        |
|-----|---------|---------------------|------------------------------|-------|-----------------------|--------|----------|--------|
|     |         |                     |                              |       | Norm                  | 90-350 | 800-1800 | 60-280 |
| Nr. | Geschl. | Blutgruppe          | Diagnose                     | Alter | IgA                   | IgG    | IgM      |        |
| 1a  | ♀       | A <sub>1</sub> rh - | Leber-Cirr. Diab. mell.      | 59    | n                     | n      | n        |        |
| 2a  | ♂       | A <sub>1</sub> rh - | Choledocho- Cholecyst. lith. | 83    | 408(+)                | n      | n        |        |
| 3a  | ♀       | A <sub>1</sub> rh - | ANV Cholec. lith.            | 77    | n                     | n      | n        |        |
| 4a  | ♀       | A <sub>1</sub> Rh + | Rektum Ca                    | 46    | 65(+)                 | n      | < 56(+)  |        |
| 5a  | ♀       | A <sub>2</sub> Rh + | Duodenaldivertikel           | 63    | n                     | n      | n        |        |

Tab. 2: Kontrollgruppe, Seren von Patienten ohne Pankreaserkrankungen

Legende siehe Tab. 1

In der Tab. 1, 2 und 6 werden die Absolutwerte der Immunglobuline nur angegeben, wenn sie von der Norm abweichen. Die Normalwerte im Serum sind für IgA 90 - 350 mg/dl, für IgG 800 - 1800 mg/dl und für IgM 60 - 280 mg/dl.

Nach dem Abschluß der Immunglobulin-Titerbestimmungen wurden die Seren bis zu ihrer weiteren Verwendung bei minus 20°C tiefgefroren aufbewahrt.

## 2.2. Gewebe aus Pankreas und Kontrollorganen (Leber, Herz, Muskel)

Das Gewebe aus den Pankreaten und den drei Kontrollorganen (Leber, Herz, Skelettmuskel) wurde während des täglichen Routinebetriebes des Obduktionssaals des Pathologischen Instituts der Universität Erlangen aus Leichen frisch entnommen, bei denen während der Sektion pathologische Veränderungen am Pankreas im Sinne einer chronischen Pankreatitis nicht festgestellt werden konnten. Die Entnahme erfolgte jeweils aus dem besterhaltenen Teil des Drüsengewebes. Ebenso wurde mit dem Gewebe der Kontrollorgane Herz, Leber und Skelettmuskel verfahren.

Im einzelnen stammte das Material aus folgenden Sektionen (s. Tab. 3):

Sektion Nr. 82/1981: Geschlecht weiblich, Alter 47 Jahre, Blutgruppe O Rh+

Sektionsdiagnose: Hauptleiden akute Exazerbation einer chronischen Bronchitis und Bronchiolitis, akute Tracheitis, Cor pulmonale, chronische Pyelonephritis mit renaler Hypertonie.

Todesursache: Akute Rechts-Herzinsuffizienz.

Pankreas: Histologisch ohne pathologischen Befund.

Leber: Mittelgradige, Klein-mitteltropfige Epithelverfettung. Akute Blutstauung.

Herz: Lipomatosis, mäßiggradige netzförmige Fibrosen intramyokardial. Beginnende Autolyse.

Sektion Nr. 97/1981: Geschlecht männlich, Alter 68 Jahre, Blutgruppe A<sub>1</sub> Rh+

Sektionsdiagnose: Hauptleiden essentielle Hypertonie, hochgradige kalzifizierte und stenosierte Koronararteriosklerose. Akuter Myokardinfarkt der Vorderwand, akutes Herzwandaneurysma.

Todesursache: Kardiogener Schock.

Pankreas: Geringgradige Lipomatosis, herdförmig intralobuläre Fibrosen.

Leber: Geringgradige mittel-grobtropfige Verfettung des Leber-

epithels gering zentral betont; Blutstauung; Einzel-Gruppenzellnekrosen.

Herz: Unspezifische Epikarditis, geringe Endokardfibrose, disseminierte postischämische Narbenfelder, interstitielles Ödem, unspezifische Myokardose.

Sektion Nr. 110/1981: Geschlecht weiblich, Alter 45 Jahre, Blutgruppe 0 Rh+

Sektionsdiagnose: Hauptleiden metastasierendes, infiltrierendes, duktales solides Mammakarzinom rechts, Perikardkarzinose, protrahierte Herzbeutel tamponade aus Perikardmetastasen-Arrosionsblutungen. Pleurametastasen.

Todesursache: Protrahierte Herzbeutel tamponade, mechanisches und tumortoxisches Rechts-Herzversagen.

Pankreas: Histologisch ohne pathologischen Befund.

An Leber und Herz histologisch kein pathologischer Befund.

Sektion Nr. 122/1981: Geschlecht männlich, Alter 20 Jahre, Blutgruppe A<sub>2</sub> Rh+

Sektionsdiagnose: Hauptleiden Ruptur eines Aneurysmas des Ramus communicans posterior der Hirnbasisarterien mit ausgedehnten frontoparietalen, subduralen und subarachnoidalen Blutungen.

Todesursache: Zentrales Regulationsversagen.

Pankreas: Histologisch ohne pathologischen Befund.

Leber: Geringgradige diffuse hydropische Leberepithelschwellung, teils extreme Verengung, teils Ektasie der Lebersinusoiden. Vereinzelt Leberepithelzellnekrosen, geringgradige läppchenzentrale Leberepithelzellverfettung.

Herz: Rechts ohne pathologischen Befund, links mäßiggradige Vakuolisierung der Herzmuskelzellen, stellenweise mit Einblutungen.

Sektion Nr. 126/1981: Geschlecht männlich, Alter 52 Jahre, Blutgruppe 0 Rh+

Sektionsdiagnose: Hauptleiden Doppelkarzinom des Ösophagus,

Zustand nach Ösophagusresektion mit Mageninterposition,  
Magenwandnekrose, Sepsis, Atherosklerose.

Todesursache: Septischer Schock.

Pankreas: Minimale Lipomatose und geringgradige Fibrose peri-  
duktulär; mäßiggradige Dyschylie in den peripheren Bezirken;  
frische Fettgewebsnekrose im Kopfrand.

Leber: Fein-grobtropfige, zentral betonte Leberepithelzell-  
verfettung, vereinzelt frische Leberepithelzellnekrosen;  
duktuläre Cholestase, geringgradige, unspezifische reaktive  
Hepatitis.

Herz: Alter, vollständig organisierter transmuraler Infarkt.  
Kompensatorische Hypertrophie der subendokardialen Herzmuskel-  
zellen.

Sektion Nr. 129/1981: Geschlecht männlich, Alter 68 Jahre,  
Blutgruppe O Rh+

Sektionsdiagnose: Hauptleiden alte Laugenverätzung des Ösopha-  
gus; Z.n. Ösophagusresektion wegen Perforation.

Todesursache: Konfluierende Bronchopneumonie beidseits, nekro-  
tisierende Mediastinitis, Pilzsepsis.

Pankreas: Histologisch geringgradige Fibrose.

Leber: Inkomplette (posthepatitische?) Leberzirrhose. Erheb-  
liche unspezifische Hepatose. Großtropfige mäßiggradige Leber-  
epithelverfettung. Intrahepatische Cholestase.

Herz: Links und rechts unspezifische Myokardose.

Sektion Nr. 134/1981: Geschlecht weiblich, Alter 60 Jahre,  
Blutgruppe A Rh+

Sektionsdiagnose: Hauptleiden Diabetes mellitus, arterielle  
Hypertonie und allgemeine Atherosklerose.

Todesursache: Zentrales Regulationsversagen bei Hirnmassen-  
blutung.

Pankreas: Lipomatose mit spärlich erhaltenem Restparenchym,  
mittelgradige interstitielle Fibrose im erhaltenen Pankreas-  
parenchym.

Leber: Mäßige fein-grobtropfige Leberepithelverfettung.

Azinozentrale Einzel- und Massenzellnekrosen. Geringfügige Lochkernbildung.

Herz: Hypertrophie der Muskulatur mit Polychromasie und Polyploidie der Kerne. Koronarsklerose.

Sektion Nr. 143/81: Geschlecht weiblich, Alter 77 Jahre, Blutgruppe O Rh+

Sektionsdiagnose: Hauptleiden Diabetes mellitus, diabetische Mikroangionathie, allgemeine Atherosklerose.

Todesursache: Protrahiertes Kreislaufversagen.

Pankreas: Interstitielle Lipomatose und geringe interstitielle Fibrose; tryptische Parenchymnekrosen an der Organoberfläche.

Leber: Massive mittel-grobtropfige Leberepithelnekrose, überwiegend zentral und intermediär. Glykogenkerne.

Herz: Kräftige Adipositas des Herzens mit breitem interventriculärem Fettgewebe, deutliche Lipomatosis. Ältere interstitielle Narben und ausgedehnte frische Myokarduntergänge.

Sektion Nr. 146/1981: Geschlecht männlich, Alter 39 Jahre, Blutgruppe O Rh+

Sektionsdiagnose: Hauptleiden Psoriasis vulgaris, systematisierte periretikuläre Amyloidose, Herdnephritis, Myokarditis, Herdenzephalitis, Sepsis.

Todesursache: Zentrales Regulationsversagen.

Pankreas: Geringe interstitielle Lipomatose und geringe Fibrose, vor allem in kleinen Ausführungsgängen. Stellungs Amyloidablagerungen in Arterien, an der Oberfläche einzelne, frische Fettgewebsnekrosen.

Leber: Massive periretikuläre Amyloidose, in den portalen Dreiecken etwas vermehrt entzündliches Infiltrat. Intrazelluläre Cholestase.

Herz: Muskelhypertrophie, kleine ältere Schwien, Einlagerungen von Amyloid in kleine intramuskuläre Arterien.

Sektion Nr. 151/1981: Geschlecht weiblich, Alter 78 Jahre, Blutgruppe A Rh+

Sektionsdiagnose: Hauptleiden chronische Pyelonephritis mit renaler Hypertonie, Herzinsuffizienz, generalisierte Atherosklerose, frischer Herzspitzeninfarkt, Parietalthrombus an der Spitze des rechten Ventrikels.

Todesursache: Fulminante Lungenarterienembolie.

Pankreas: Histologisch ohne pathologischen Befund.

Leber: Mäßiggradige grobtropfige peripher betonte Leberepithelverfettung. Mäßiggradige unspezifische reaktive Hepatitis mit lymphoplasmazellulären Infiltrationen in den Portalfeldern.

**Multiple Lochkerne.**

Herz: Multiple disseminierte kleinfleckige unterschiedlich alte Herzmuskelzelinekrosen. Extensive Endokardfibrose des linken Vorhofs.

Die Sektionsergebnisse sowie die Daten der betreffenden Patienten sind in Tabelle 3 noch einmal kurz aufgeführt. Dort wird auch ersichtlich, welche der oben genannten Patienten-seren an welchen Sektionsfällen untersucht wurden. Zur Vermeidung falsch positiver Ergebnisse aus Gründen der Blutgruppenunverträglichkeit wurden die Seren jeweils auf Organen von Individuen der selben Blutgruppe oder der Blutgruppe O Rh+ geprüft (s. auch Tab. 3).

Bei den histologischen Untersuchungen der entnommenen Organteile, die erst nach dem Anfertigen der Immunfluoreszenzpräparate angestellt wurden und eingesehen werden konnten, zeigte sich, daß von den 10 entnommenen, makroskopisch unauffälligen Pankreaten 4 ohne pathologischen Befund waren, die restlichen 6 Pankreaten wiesen lediglich interstitielle Lipomatose und Fibrosen auf.

Nach Entnahme aus den Leichen wurden die Gewebeproben sogleich mit CO<sub>2</sub>-Gas gefroren und wie in Abschnitt "3. Eigene Untersuchungen" beschrieben weiter verarbeitet.

| Sektion Nr. | Geschl. | Alter | Blutgruppe | Hauptleiden                                     | Todesursache                                          | Pankreas Histologie                                      | Untersucht mit Seren Nr.                                 |
|-------------|---------|-------|------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 82 / 1981   | ♀       | 47    | 0 Rh +     | Exzardib. chr. Bronchitis                       | Ak. Re-Herzinsuffizienz                               | Ohne path. Befund                                        | 5 (0 Rh +)                                               |
| 97 / 1981   | ♂       | 68    | A1 Rh +    | Ess. Hypertonie,<br>Koronararteriosklerose      | kardiogener Schock                                    | Geringe Lipomatosis, einzelne<br>intraalveoläre Fibrosen | 16 (A1 Rh +), 24 (A1 Rh +)                               |
| 110 / 1981  | ♀       | 45    | 0 Rh +     | Mamma-Ca<br>Perikardkarzinose                   | Mechanisches u. tumor-<br>toxisches Re-Herzversagen   | Ohne path. Befund                                        | 22 (0 Rh +), 30 (0 Rh +)                                 |
| 122 / 1981  | ♂       | 20    | A2 Rh +    | Aneurysma ruptur<br>einer Hirnbasisarterie      | Zentrales Regulations-<br>versagen                    | Ohne path. Befund                                        | 3 (A1 Rh +), 15 (A1 Rh +),<br>19 (A1 Rh +), 27 (A2 Rh +) |
| 126 / 1981  | ♂       | 52    | 0 Rh +     | Ösophagusdoppel-Ca                              | Septischer Schock                                     | Minimale Lipomatose u.<br>geringe Fibrose                | 8, 9, 10, 11, 12, (alle 0 Rh +)                          |
| 129 / 1981  | ♂       | 68    | 0 Rh +     | Alle Ösophaguslaugenver-<br>ätzung, Perforation | Nekrotisierende Medi-<br>astinitis, Pilzapsis         | Geringgradige Fibrose                                    | 14, 21, 26 (alle 0 Rh +)                                 |
| 134 / 1981  | ♀       | 60    | A Rh +     | Diabetes mellitus,<br>Hypertonie, Atheroskler.  | Zentr. Regulationsver-<br>sagen bei Hirnmassenanstieg | Lipomatose, mittelgradige<br>interstitielle Fibrose      | 1 (A1 Rh +)<br>13 (A1 Rh -), 20 (A2 Rh -)                |
| 143 / 1981  | ♀       | 77    | 0 Rh +     | Diabetes mellitus,<br>Atherosklerose            | Kreislaufversagen                                     | Int. Lipomatose und<br>geringe int. Fibrose              | 4 (B Rh +), 17 u. 29 (0 Rh -)<br>23, 28, 31, (AB Rh +)   |
| 151 / 1981  | ♀       | 78    | A Rh +     | Hypertonie,<br>Herzinfarkt                      | Lungenarterien-<br>embolie                            | Ohne path. Befund                                        | 1a, 2a, 3a (alle A Rh -)<br>4a, 5a (A Rh +)              |
| 146 / 1981  | ♂       | 39    | 0 Rh +     | Amyloidose                                      | Zentr. Regulation                                     | Ger. int. Lipom. u. Fibrose                              | Kontrollgruppe                                           |

**Tab. 3:** Aufstellung der Sektionsfälle, von denen Material (Pankreas, Herz, Skelett-muskel) für die Untersuchungen entnommen wurde

## 2.3. Antiseren

Nach Inkubation der aus den entnommenen Gewebeproben erstellten Gefrierschnitte mit den verschiedenen Patientenseren erfolgte die 2. Inkubation der Präparate mit FITC-konjugierten Antihumanglobulinseren von Kaninchen. Diese 2. Reaktion sollte eventuell abgelaufene Reaktionen von Antikörpern aus den Patientenseren mit dem Gewebe der Schnitte bzw. Antigen-Antikörperkomplexe sichtbar machen.

Es wurden auf getrennten Schnitten 3 Antiseren, nämlich solche gegen menschliches IgA, IgG und IgM verwendet.

Die Antiseren stammten von der Firma Dako Immunglobulins Ltd. in Dänemark, Vertrieb in Deutschland über Boehringer Ingelheim Diagnostika Garching, München.

Folgende Antiseren dieser Firma wurden benutzt:

Zur fluoreszenzoptischen Markierung von IgA-Antikörpern:

Anti-Human-IgA-Serum vom Kaninchen, Code: F 1092, Lot: 019 A.

Zur Markierung von IgG-Antikörpern: Anti-Human-IgG-Serum vom Kaninchen, Code: F 1090, Lot: 070, und schließlich zur Markierung der Antikörper der IgM-Klasse: Anti-Human-IgM-Serum vom Kaninchen, Code: F 1091, Lot: 099 D.

Das Wirkungsprinzip der Immunfluoreszenz und der FITC-markierten Antiseren bei der indirekten Immunfluoreszenz wird unten (Abschnitte 2.2. und 4.2.) ausführlich erläutert.

Die Antiseren wurden bis zur Anwendung fraktioniert bei 4°C im Dunkeln gelagert.

## 2.4. Indirekte Immunfluoreszenz

Mit der Arbeit sollen

- der Immunglobulinspiegel im Serum von Patienten mit chronischer Pankreatitis und
- eventuelle Antigen-Antikörperreaktionen zwischen normalem Pankreasgewebe und diesen Seren untersucht werden.

Grundlage der letzteren Untersuchungen war die Methode der indirekten Immunfluoreszenz. Hierbei laufen folgende Reaktionen ab:

Ein spezifischer Antikörper - hier die Antikörper in den Seren der chronischen Pankreatitiker - bindet an ein menschliches Zell- oder Gewebsantigen. Solche antigenen Eigenschaften wurden in unserem Fall von den normalen Pankreaten aus dem Autopsiematerial erwartet. Um diese Bindung sichtbar zu machen, wird ein spezifisch gegen diesen Antikörper gerichtetes Serum einer anderen Spezies, hier des Kaninchens, verwendet. Dieses Antiserum wird mit einem fluoreszierenden Farbstoff (FITC) markiert und ist dadurch im Fluoreszenzmikroskop sichtbar. Überschichtet man nun damit den Gewebsschnitt, an dem bereits der gesuchte Antikörper haftet, so werden dieser Antikörper und das konjugierte Antiserum miteinander reagieren. Nach dem Entfernen aller Überstände durch gründliches Spülen bleiben konjugierte Antikörper nur dort auf dem Schnitt zurück, wo auch die gesuchten spezifischen Antikörper während der vorangegangenen 1. Inkubation an das Gewebe gebunden haben. Dort kann man dann bei Betrachtung im UV-Licht ein Aufleuchten beobachten, das durch das am Komplex aus Antigen-Antikörper und "Antiantikörper" haftende FITC hervorgerufen wird.

Markiert und sichtbar gemacht wird also nicht der gesuchte Antikörper direkt, sondern indirekt über die Reaktion mit einem Kaninchenantikörper, an dem wiederum der Farbstoff hängt.

## 2.5. Laser-Nephelometrie

Die Immunglobulinspiegel in den Patientenserum wurden im Institut für klinische Immunologie und Rheumatologie der Universität Erlangen (Direktor: Prof. Dr. KALDEN) mit dem Verfahren der Laser-Nephelometrie bestimmt.

Dabei wird die Konzentration der verschiedenen Immunglobuline im Serum mit Hilfe der Extinktion eines Laser-Lichtstrahls ermittelt und in mg/dl angegeben (Normalwerte und Ergebnisse siehe 2.1., 4.1. und Tab. 1, 2 und 6). Dieses Routine-Verfahren wird hier nicht näher erläutert.

Die Seren unserer Patienten aus Untersuchungs- und Kontrollgruppe wurden auf ihren quantitativen Gehalt an IgA, IgG und IgM untersucht.

## 2.6. Vorversuche

Um herauszufinden, welche Verdünnungen von Patientenseren und Antiseren für die Nachweisreaktion am geeignetsten sind, wurden zunächst einige Versuchsserien mit unterschiedlichen Verdünnungen und unterschiedlichen Kombinationen der Verdünnungen von Patientenseren und Antiseren geprüft. Ebenso sollte herausgefunden werden, ob es zweckmäßiger sei, die Schnitte gleich nach dem Gefrierschneiden mit 100 % Äthanol zu fixieren, oder unfixiert zu belassen. Weiterhin wurden 2 Möglichkeiten der Inkubation erprobt, nämlich die Inkubation über 2 x 12 h bei 4°C sowie die Inkubation über 2 x 2 h bei Zimmertemperatur.

Bei diesen Versuchen wurde nach dem in Tabelle 4 wiedergegebenen Schema gearbeitet.

Hierbei wurden alle möglichen Kombinationen, die sich aus dieser Tabelle ergeben, ausgetestet.

Die verschiedenen Verdünnungen von Antiseren und Patientenseren wurden also an unfixierten und fixierten Schnitten aller vier Organe mit beiden Inkubationsarten erprobt und untereinander kombiniert. Dabei ergab sich eine große Zahl von Versuchspräparaten, bei deren Auswertung sich die beste Methode klar herauskristallisierte. Für die Versuche wurden stichprobenartig aus dem Kollektiv der Untersuchungsgruppe ausgewählte Seren verwendet, sowie Material von Leichen,

| Sektionsmaterial |           | 1. Inkubation mit Patientenserum | 2. Inkubation mit Antiseren ( IgA, IgG, IgM ) | Kontrollen bei jedem Organ                                                                                        | Art der Inkubation                                   |
|------------------|-----------|----------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Pankreas         | Fixiert   |                                  | Je 3. (PS unv. 1: 10 / 1: 100)                | 1. Nativschnitt<br><br>2. Schnitt nur mit Patientenserum<br><br>3. Schnitt nur mit Antiseren (Antiserumkontrolle) | 1. 4°C 2-12h<br><br><br><br><br><br><br>2. 20°C 2-2h |
|                  | Unfixiert |                                  |                                               |                                                                                                                   |                                                      |
| Herz             | Fixiert   |                                  |                                               |                                                                                                                   |                                                      |
|                  | Unfixiert |                                  |                                               |                                                                                                                   |                                                      |
| Leber            | Fixiert   |                                  |                                               |                                                                                                                   |                                                      |
|                  | Unfixiert |                                  |                                               |                                                                                                                   |                                                      |
| Skelettmuskeln   | Fixiert   |                                  |                                               |                                                                                                                   |                                                      |
|                  | Unfixiert |                                  |                                               |                                                                                                                   |                                                      |

**Tab. 4: Vorversuche**  
PS = Patientenserum

die nicht zu den oben angeführten Sektionsfällen zählten. Die Ergebnisse der Voruntersuchungen werden nur zur Bestimmung des Verfahrens der Präparateherstellung verwendet, sie erscheinen nicht in Abschnitt 4.2. "Ergebnisse der Immunfluoreszenzuntersuchungen".

Dazu wurden die bei der Voruntersuchung benützten Seren noch einmal nach Festlegung der Methode mit den in Abschnitt 2.2. angeführten Sektionsmaterialien untersucht. Die besten Ergebnisse zeigten Präparate, die gleich nach dem Schneiden für 15 Minuten bei Zimmertemperatur in 100-prozentigem Äthanol fixiert worden waren und mit Patientenserum und Antiserum je 2 h bei Zimmertemperatur in der feuchten Kammer inkubiert wurden. Als beste Verdünnungen stellten sich dabei heraus:

- Für das verwendete Patientenserum:

Bei den Schnitten, die anschließend mit Anti-IgM- und Anti-IgG-Seren überschichtet wurden, wurde das Patientenserum unverdünnt aufgebracht. Bei Präparaten, die mit Anti-IgA untersucht wurden, wurde ein Schnitt mit unverdünntem Patientenserum, zusätzlich ein weiterer Schnitt mit 1 : 20 verdünntem Patientenserum inkubiert.

- Für die Antiseren waren die geeignetsten Verdünnungen:

Für Anti-IgA = 1 : 10

Für Anti-IgG = 1 : 10

Für Anti-IgM = 1 : 20

Verdünnt wurden Patientenserum und Antiseren kurz vor Gebrauch mit Aqua bidest., wobei letztere bis zur Verwendung fraktioniert bei 4°C lagerten, die Patientenserum waren tiefgefroren aufgehoben. So ergaben sich für je ein zu untersuchendes Patientenserum pro Organ (Pankreas, Leber, Herz, Skelettmuskel) 9 Präparate nach dem folgenden Schema, insgesamt also pro Serum 36 Präparate.

| Organ         | Erste Inkubation       |           | Nativschnitt | Zweite Inkubation                 |                |                 |
|---------------|------------------------|-----------|--------------|-----------------------------------|----------------|-----------------|
|               | 2h 20°C Feuchte Kammer |           |              | 2h 20°C feuchte Kammer Dunkelheit |                |                 |
| Pankreas fix. | +PS unverd.            | +PS 1: 20 |              | +Anti IgA 1: 10                   | +Anti IgG1: 10 | +Anti IgM 1: 20 |
| 1. Schnitt    | x                      |           |              | x                                 |                |                 |
| 2. Schnitt    |                        | x         |              | x                                 |                |                 |
| 3. Schnitt    | x                      |           |              |                                   | x              |                 |
| 4. Schnitt    | x                      |           |              |                                   |                | x               |
| KONTROLLEN :  |                        |           |              |                                   |                |                 |
| 5. Schnitt    |                        |           | x            |                                   |                |                 |
| 6. Schnitt    |                        |           |              | x                                 |                |                 |
| 7. Schnitt    |                        |           |              |                                   | x              |                 |
| 8. Schnitt    |                        |           |              |                                   |                | x               |
| 9. Schnitt    | x                      |           |              |                                   |                |                 |

**Tab. 5:** Schema zur Herstellung der Präparate  
PS = Patientenserum

Nach diesem Schema wurden alle Patientenserum mit Gefrierschnitten aller 4 Organe untersucht. Als Kontrollen ergaben sich also neben den zur Erkennung der Spezifität der markierten Antikörper angefertigten Präparaten der drei Kontrollorgane ("Negativkontrollen", die das gesuchte Antigen - Pankreasstrukturen - nicht enthalten) die Schnitte, die

nur mit Patientenseren oder nur mit Antiseren ("Antiserum- oder Konjugatkontrolle") oder gar nicht ("Leer- oder Nativschnitt", zur Erkennung der Eigenfluoreszenz des Gewebes) beschichtet und inkubiert wurden.

Der genaue Arbeitsgang zur Herstellung und Auswertung der Präparate war wie im folgenden Abschnitt beschrieben:

### 3. Eigene Untersuchungen

Wir stellten unsere Untersuchungen mit den Seren von 27 Patienten mit verschiedenen Formen der chronischen Pankreatitis an (8 chronisch kalzifizierende Pankreatitiden, 14 chronische bzw. chronisch rezidivierende Pankreatitiden und 5 akute Exazerbationen chronischer Pankreatitiden).

Diese Seren wurden zunächst mit Hilfe der Lasernephelometrie auf ihren IgA-, IgG- und IgM-Gehalt untersucht, so- dann wurden sie auf Gefrierschnitten von normalem, homologen Pankreasgewebe hinsichtlich ihres Reaktionsvermögens mit Pankreasantigenen getestet. Zur Kontrolle wurden Präparate von Herz, Leber und Skelettmuskel angefertigt, ferner wurden die als Kontrollgruppe fungierenden Seren von 5 Patienten ohne Pankreaserkrankungen in gleicher Weise untersucht.

Das Gewebe von Pankreas, Herz, Leber und Skelettmuskel wurde den in Tab. 3 angeführten Sektionsfällen während oder gleich nach der Sektion entnommen. Anschließend wurde es sofort weiterverarbeitet. Aus den Gewebestückchen wurden zum Schneiden auf dem Kryostaten etwa 4 x 6 x 3 mm große Blöcke geschnitten. Diese wurden mit CO<sub>2</sub>-Schnee sekundenschnell auf den Fixierzylinder des Kryostaten aufgefroren. Dieses schnelle Ein- und Auffrieren ist wichtig, um Schäden im Gewebe zu vermeiden, die bei langsamem Einfrieren z.B. in der Tiefkühltruhe auftreten könnten. Dann wurden von den Blöcken etwa 5 mm dicke Gefrierschnitte angefertigt, die sofort auf vorher sorgfältig mit 96-prozentigem Äthanol gereinigte Objektträger übertragen wurden. Nun erfolgte die Fixierung der Schnitte in 100-prozentigem Äthanol über 15 min., indem die Objektträger bei Zimmertemperatur senkrecht ins Äthanolbad gestellt wurden. Durch diese Fixierung hafteten die Schnitte besser am Objektträger an, was besonders später beim Abspülen der überschüssigen Patienten- und Antiseren

wichtig war. Nach dem Fixieren wurden die Präparate kurz an der Luft getrocknet und dann die Objektträger um den Schnitt herum trockengewischt. Nun konnten die Schnitte mit den entsprechend verdünnten oder unverdünnten, in den Tab. 1 und 2 aufgelisteten, bereits auf ihre Ig-Titer untersuchten Patientenserum überschichtet werden (je 1 - 2 Tropfen mit der Pipette auf den Schnitt). Anschließend folgte die erste Inkubation bei Zimmertemperatur über 2 h in der feuchten Kammer, um ein Austrocknen des Gewebes zu vermeiden. Die zur Kontrolle der Eigenfluoreszenz angefertigten Nativschnitte (Leerschnitte), die weder mit Patientenserum noch mit Antiserum inkubiert wurden, konnten gleich nach dem Fixieren eingedeckt werden.

Nach der ersten Inkubation wurde das auf dem Schnitt stehende Patientenserum abgekippt und dann unter der Wasserleitung weiter abgespült, indem der Objektträger waagrecht so unter den leichten Strahl gehalten wurde, daß dieser am Rand des Trägers auftraf und großflächig nach allen Seiten vom Objektträger abfloß. In dieser Weise wurde 2 x 3 min. gespült. Ein sehr gründliches Abspülen der überständigen Patientenserum und nach der 2. Inkubation der Konjugate ist von grosser Wichtigkeit, um Fehldeutungen von freien nicht spezifisch gebundenen Ag-Ak-Komplexen bei der Auswertung zu vermeiden. Im Extremfall könnten die Schnitte bei mangelhaftem Spülen so starke unspezifische diffuse Fluoreszenzen zeigen, daß ein Auswerten unmöglich wäre.

Nach dem wie oben beschriebenen Spülen folgten Trockenwischen des Objektträgers um das Präparat herum und Beschichten mit dem entsprechend verdünnten FITC-markierten Antiserum (Anti-IgA, Anti-IgG und Anti-IgM jeweils auf eigenen Objektträgern). Auch die Konjugate wurden 2 h lang in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur inkubiert. Die 2. Inkubation wurde im Dunkeln vorgenommen, um einen Fluoreszenzverlust des Antiserums zu vermeiden. Auch nach der zweiten Inkubation wurde gespült wie oben beschrieben. Die fertigen Präparate

konnten dann mit gepuffertem Glycerin (9 Teile Glycerin auf 1 Teil PPS) eingedeckt werden. Möglichst gleich nach Fertigstellung der Präparate erfolgte ihre Auswertung.

Dazu verwendeten wir ein Fluoreszenzmikroskop "Orthoplan" der Firma Leitz mit folgender Filterkombination: Anregungsfilter BP 450 - 490 und Sperrfilter LP 515 (siehe Abschnitt 5.2.8.). Zur Befunddokumentation standen uns eine moderne Kleinbildspiegelreflexkamera, hochempfindliche Dia-Farbfilme sowie eine automatische Belichtungsregelung zur Verfügung.

Positive Reaktionen zeigten sich in der grünen Fluoreszenz der an spezifische Strukturen gebundenen und durch die entsprechenden Konjugate dargestellten Antikörper.

#### 4. Ergebnisse

##### 4.1. Ergebnisse der Laser-Nephelometrie (Ig-Titer der Patientenseren)

##### 4.1.1. Seren von Patienten mit chronischer Pankreatitis (Untersuchungsgruppe)

Die bei der Laser-Nephelometrie gefundenen Titer der Immunglobuline A, G und M wurden in 3 Kategorien - im Normbereich, mittelgradig (↑) und stark erhöht (↑↑) bzw. erniedrigt (↓, ↓↓) eingeteilt. In Tabelle 6 werden die von der Norm abweichenden Seren zusammengefaßt. Die Daten der Seren wurden bereits in den Tabellen 1 (Untersuchungsgruppe) und 2 (Kontrollgruppe) aufgeführt.

Die Seren der Patienten aus der Untersuchungsgruppe zeigten folgende Ergebnisse (Absolutwerte bei Abweichung von der Norm siehe Tabelle 1, 2 und 6):

Die Seren Nr. 1, 3, 8 - 17, 20, 21, 26, 27 und 30 lagen mit allen 3 Immunglobulinklassen im Normbereich.

Serum Nr. 4, von einer 58jährigen Patientin mit akutem Schub einer chronischen Pankreatitis, bot eine starke Erhöhung von IgM. Serum Nr. 5 (männl., 39 Jahre, chronisch rezidivierende Pankreatitis) hatte mittelgradig IgA erhöht.

Im Serum Nr. 18 von einem 44 Jahre alten Mann mit chronisch rezidivierender Pankreatitis war das IgA stark, das IgG mittelgradig erhöht. Serum Nr. 19, von einem 42jährigen Patienten mit chronischer Pankreatitis, zeigte eine mittelgradige, Serum Nr. 22 (männl., 40 Jahre, chronisch kalzifizierende Pankreatitis) eine starke Erhöhung des IgA-Titers. Das Serum Nr. 24 (weibl., 26 Jahre, chronische Pankreatitis) hatte einen stark erhöhten IgM-Titer. Im Serum Nr. 28 (männl.,

35 Jahre, chronisch rezidivierende Pankreatitis) war IgG mittelgradig erhöht, im Serum Nr. 29 (männl., 29 Jahre, chronische Pankreatitis) waren IgG stark und IgM mittelgradig erhöht, und schließlich bot das Serum Nr. 31 (männl., 49 Jahre, chronisch rezidivierende Pankreatitis) mittelgradige Erhöhung des IgA-Titers.

Als einzige Abweichung nach unten ergab sich bei Serum Nr. 23, das einer 35jährigen Frau mit einem akuten Schub einer rezidivierenden Pankreatitis entnommen worden war, eine mittelgradige Erniedrigung des IgM-Titers.

#### 4.1.2. Seren von Patienten ohne Pankreaserkrankungen (Kontrollgruppe)

Von den Seren der 5 Patienten aus der Kontrollgruppe ohne Pankreaserkrankungen waren die Spiegel aller 3 Immunglobuline bei den Seren Nr. 1a, 3a und 5a normal. Das Serum Nr. 2a von einem 83jährigen Patienten mit Choledocholithiasis zeigte eine mittelgradige Erhöhung von IgA, während beim Serum Nr. 5a (weibl., 46 Jahre, Rektum-Ca.) IgA und IgM mittelgradig erniedrigt waren.

Von den Seren der 27 untersuchten Patienten aus der Untersuchungsgruppe zeigten also die Seren von 7 Männern und 2 Frauen Immunglobulinerhöhungen, das Serum einer Frau lag mit seinem IgM-Spiegel unter der Norm.

3 der 5 Seren der Patienten aus der Kontrollgruppe waren normal, während das eines Mannes leichte IgA-Erhöhung, das einer Frau mit Rektumcarcinom leichte IgA- und IgM-Erniedrigung zeigten.

|                     |         |                     |                                             |       | AK - Titer in mg / dl |          |          |        |
|---------------------|---------|---------------------|---------------------------------------------|-------|-----------------------|----------|----------|--------|
| UNTERSUCHUNGSGRUPPE |         |                     |                                             |       | Norm                  | 90-350   | 800-1800 | 60-280 |
| Nr.                 | Geschl. | Blutgruppe          | Diagnose                                    | Alter | IgA                   | IgG      | IgM      |        |
| 4                   | ♀       | B <sub>1</sub> Rh + | Ak. Schub einer chr. rez. Pankreatitis      | 58    | n                     | n        | 593(++)  |        |
| 5                   | ♂       | 0 Rh +              | Chr. rez. Pankreatitis                      | 39    | 390(+)                | n        | n        |        |
| 18                  | ♂       | A2 Rh +             | Chr. rez. Pankreatitis                      | 44    | 675(++)               | 1966(+)  | n        |        |
| 19                  | ♂       | A <sub>1</sub> Rh + | Chr. Pankreatitis                           | 42    | 385(+)                | n        | n        |        |
| 22                  | ♂       | 0 Rh +              | Chr. kalz. Pankreatitis                     | 40    | 558(++)               | n        | n        |        |
| 23                  | ♀       | AB Rh +             | Akuter Schub einer chron. rez. Pankreatitis | 35    | n                     | n        | 57(+)    |        |
| 24                  | ♀       | A <sub>1</sub> Rh + | Chr. Pankreatitis                           | 26    | n                     | n        | 394(++)  |        |
| 28                  | ♀       | AB Rh +             | Chr. rez. Pankreatitis                      | 35    | n                     | 2010(+)  | n        |        |
| 29                  | ♂       | 0 rh -              | Chr. Pankreatitis, Pankreaspseudozyste      | 29    | n                     | 2131(++) | 361(+)   |        |
| 31                  | ♂       | AB Rh +             | Chr. rez. Pankreatitis, Pseudozysten        | 40    | 370(+)                | n        | n        |        |
| KONTROLLGRUPPE      |         |                     |                                             |       |                       |          |          |        |
| 2a                  | ♂       | A <sub>1</sub> rh - | Choledocho-Cholezystolithiasis              | 83    | 408(+)                | n        | n        |        |
| 5a                  | ♀       | A <sub>1</sub> Rh + | Rektumcarcinom                              | 46    | 65(+)                 | n        | <57(+)   |        |

Tab. 6: Seren von Patienten aus Untersuchungs- und Kontrollgruppe, deren Antikörper-Titer von der Norm abweichen. Bei Abweichungen sind die ermittelten Absolutwerte in mg/dl angegeben, zusätzlich Einstufung in ↑ = mittelgradig bzw. ↑↑ = stark erhöht, ↓ = mittelgradig erniedrigt, wie im Text gebraucht

## 4.2. Ergebnisse der Immunfluoreszenzuntersuchungen

Die Ergebnisse sollen hier für jedes einzelne Serum ausführlich beschrieben werden, sowie außerdem in einer Tabelle übersichtlich geordnet werden. Die Reihenfolge der Beschreibung ergibt sich dabei nicht aus der Numerierung der Patientenserum; vielmehr werden verschiedene Seren, die auf Gewebeschnitten von ein und demselben Autopsiematerial untersucht wurden, in Gruppen zusammengefaßt, um eventuell ähnliche Ergebnisse übersichtlicher zu machen.

Die Beurteilung der Reaktionen erfolgte nach den Kategorien negativ (-); schwach positiv (+); (mäßiggradig) positiv (++); stark positiv (+++). Die Verdünnungen der Patientenserum und der Konjugate waren dabei immer wie in Abschnitt 2.6. angegeben. Für Untersuchungen mit Anti-IgA-Konjugat wurden jeweils ein Schnitt mit unverdünntem Patientenserum und ein weiterer mit 1 : 20 verdünntem Patientenserum angefertigt. In den Ergebnisbeschreibungen werden diese Präparate jedoch nur dann getrennt angeführt, wenn sie sich in den Reaktionen unterscheiden.

Zunächst werden für jedes untersuchte Patientenserum die Ergebnisse der Pankreasuntersuchungspräparate (Patientenserum + Anti-IgA, bzw. + Anti-IgG/+ Anti-IgM) sowie der Pankreas-kontrollpräparate (Leerschnitt, Patientenserum, Anti-IgA-Konjugat, Anti-IgG-Konjugat, Anti-IgM-Konjugat) geschildert, dann werden in gleicher Weise die Ergebnisse des betreffenden Patientenserums auf Untersuchungs- und Kontrollpräparaten von den Kontrollorganen Herz, Muskel und Leber angeführt.

### 4.2.1. Seren von Patienten mit chronischer Pankreatitis (Untersuchungsgruppe)

Zunächst werden die Ergebnisse der Untersuchungsgruppe beschrieben.

Das Serum Nr. 5 (männl., 39 Jahre, 0 Rh+, IgA mittelgradig erhöht, chronisch rezidivierende Pankreatitis) wurde inkubiert auf Gewebe der Sektion Nr. 82/81 (weibl., 47 Jahre, 0 Rh+, Todesursache akute Rechts-Herz-Insuffizienz).

Die Pankreaspräparate ergaben: PS + Anti-IgA zeigt positive Granula in den Azinozyten, zum Teil sind auch die Kernsubstanz und die Zellmembranen positiv. Im Präparat PS 1:20 + Anti-IgA sind Azinoepithelaußenseiten positiv dargestellt. Präparat PS + Anti-IgG bietet periazinär Grünfluoreszenz sowie positive Granula.

Bei Verwendung von PS-Anti-IgM zeigten sich zum Teil positive Kerne.

Die Pankreaskontrollschnitte (Leerschnitt, PS, Anti-IgA, Anti-IgG, Anti-IgM) waren alle negativ.

Antikörper aus diesem Patientenserum haben also hier mit Pankreasantigenen der Schnitte reagiert. Die Reaktionen scheinen ferner pankreasspezifisch zu sein, da alle Präparate von Herz Leber und Skelettmuskel bis auf eines negativ ausfielen. Dieses eine Präparat (Skelettmuskel, PS + Anti-IgG) zeigt eine schwache Grünfluoreszenz der Querstreifung.

Auf Schnitten der Sektion Nr. 82/81 wurden keine weiteren Seren untersucht.

Die Seren Nr. 16 (weibl., 36 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, normale Ig-Titer, chronisch kalzifizierende Pankreatitis) und Nr. 24 (weibl., 26 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, IgM stark erhöht, chronische Pankreatitis) wurden auf Präparaten der Sektion Nr. 97/81 (männl., 66 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, Todesursache kardiogener Schock) inkubiert.

Serum 16 zeigte dabei folgende Ergebnisse:

Pankreaspräparate: PS + Anti-IgA bietet eine schwach positive interstitielle Reaktion, die Azinozyten sind frei. In Schnitt mit PS + Anti-IgG erscheint abschnittsweise in den Lumina der Ausführungsgänge Grünfluoreszenz, außerdem sind in einzelnen Azinozyten stecknadelspitzgroße Granula positiv dargestellt. Periazinär keine Reaktion. PS + Anti-IgM ist nahezu negativ, lediglich eine schwach positive periazinäre und interstitielle Reaktion ist zu erkennen.

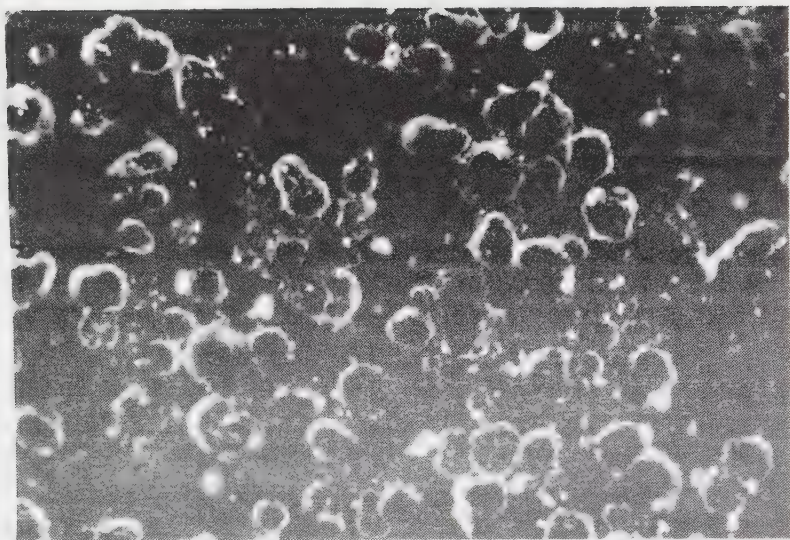


Abb. 1: Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreasgewebe (Autopsiematerial SN 97/81), Serum einer an chronischer Pankreatitis erkrankten Patientin (Serum Nr. 24, erheblich erhöhter IgM-Spiegel, normaler IgA- und IgG-Gehalt) und FITC-konjugiertem Anti-IgG.

Nahezu selektive periazinäre positive Immunfluoreszenz, die größtenteils an die Basalmembranen gebunden ist und nur vereinzelt Azinusepithelien betrifft. Nur einzelne punktförmige Deposite im Interstitium.

Vergrößerung 80fach

Die Kontrollen PS sowie Anti-IgM sind negativ, die Kontrollschnitte Anti-IgA und Anti-IgG zeigen eine schwache interstitielle Reaktion, die Azinozyten lassen sie frei.

Herzmuskelpräparate: PS + Anti-IgA zeigt an einzelnen Stellen der Zellaußenseiten klein granulär aufleuchtende Punkte, PS 1:20 + Anti-IgA auch geringe interstitielle Fluoreszenz, ansonsten sind diese Schnitte negativ.

Alle anderen Präparate einschließlich der Kontrollen sind bis auf geringfügige diffuse Reaktionen negativ.

Skelettmuskelpräparate: PS + Anti-IgA weist eine geringe herdförmige Fluoreszenz der Querstreifung auf, sonst in allen Abschnitten negativ. Ebenso sind die Schnitte PS + Anti-IgG sowie PS + Anti-IgM negativ. Von den Kontrollen bieten die Schnitte Anti-IgA bzw. Anti-IgG das gleiche Bild wie das Präparat mit PS + Anti-IgA, also leichte Fluoreszenz der Querstreifung, ansonsten negative Kontrollen. Es dürfte sich also hier nicht um Reaktionen von Antikörpern aus dem Patientenserum an Skelettmuskelantigenen gehandelt haben.

Alle Leberpräparate sind negativ.

Das ebenfalls auf dieser Sektion untersuchte Serum Nr. 24 zeigte andere Ergebnisse.

Pankreaspräparate: PS+ Anti-IgA bietet hier periazinäre Grünfluoreszenz, die Azinozytenkerne und Granula sind negativ. Die Gefäße sind frei von Antigen-Antikörper-Konjugat-Komplexen.

In PS + Anti-IgG treten interstitiell minimale Grünfluoreszenz, in den Azinozyten fein granuläres Aufleuchten sowie ausserdem periazinäre Grünfluoreszenz auf (siehe Abb. 1).

PS + Anti-IgM stellt sich periazinär ähnlich dar, granulär ist es jedoch negativ.

Die Kontrollen PS, Anti-IgM sowie Anti-IgG sind völlig negativ, das Präparat, das nur mit Anti-IgA beschichtet wurde, bietet jedoch dasselbe Bild wie das Untersuchungspräparat; das zuvor auch mit Patientenserum behandelt worden war.

Herzmuskelpräparate: Sie sind bis auf geringe diffuse interstitielle Reaktionen negativ, keine spezifische Darstellung

Skelettmuskelpreparate: Ebenfalls negativ bis auf die IgG-Preparate: PS + Anti-IgG zeigt disseminierte kleinfleckige und punktförmige positiv fluoreszierende Niederschläge, das nur mit Anti-IgG beschichtete Kontrollpräparat bietet deutlich sichtbare Zellgrenzen und Querstreifung, wobei die Zellgrenzen unterbrochen linear dargestellt sind. Welcher Mechanismus für die Entstehung dieser Erscheinungen verantwortlich sein könnte, müßte diskutiert werden, eventuell könnte es sich um Niederschläge aus IgG des Patientenserums handeln.

Leberpreparate: Bis auf gelegentliche schwache Darstellung des Fasergerüsts oder äußerst schwache diffuse zytoplasmatische Reaktionen sowohl bei den Untersuchungs- als auch bei den Kontrollschnitten negativ.

Bei diesen beiden auf Gewebsschnitten der Sektion Nr. 97/81 untersuchten Seren Nr. 16 und Nr. 24 zeigten sich also die Kontrollorgane im wesentlichen negativ, während beim Pankreas die Seren unterschiedliche Ergebnisse brachten.

Auf Schnitten der Sektion Nr. 110/81 (weibl., 45 Jahre, 0 Rh+, Todesursache mechanisches und tumortoxisches Rechts-Herz-Versagen) wurden die Patientenserum Nr. 22 (männl., 40 Jahre, 0 Rh+, IgA stark erhöht, chronisch kalzifizierende Pankreatitis) und Nr. 30 (männl., 20 Jahre, 0 Rh+, normale Ig-Titer, akut exazerbierte Pankreatitis) untersucht.

Das Serum Nr. 22 von einem Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis, dessen IgA-Titer stark erhöht war, brachte dabei folgende Ergebnisse:

Pankreaspreparate: PS + Anti-IgA hatte an den Azinozytenzellmembranen reagiert und abschnittsweise schwache diffuse zytoplasmatische fluoreszenzpositive Ablagerungen (siehe Abb. 2). Alle anderen Pankreaspreparate einschließlich der Kontrollen waren negativ (IgA im Serum stark erhöht!).

Herzmuskelpreparate: Untersuchungs- und Kontrollschnitte sind negativ, bis auf das ausschließlich mit Anti-IgG-Konjugat bearbeitete Präparat, das eine schwach positive diskontinuierliche Grünfluoreszenz um einige Zellgrenzen zeigt.

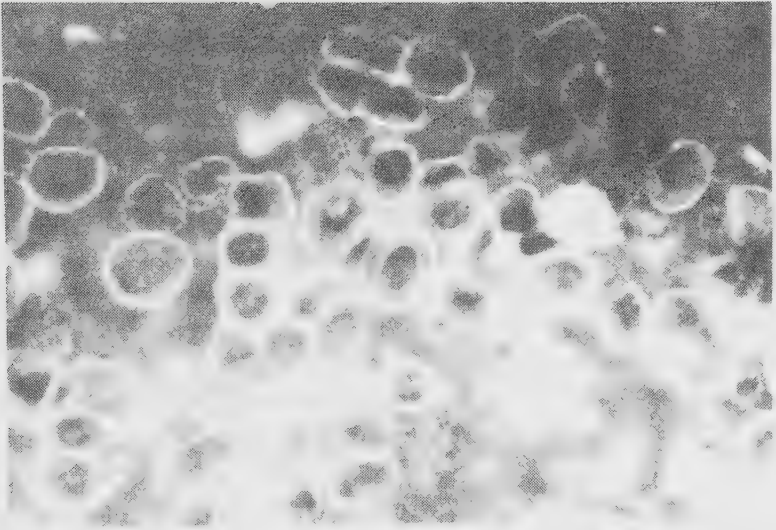


Abb. 2: Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreas-  
gewebe (Autopsiematerial SN 110/81), Serum eines  
an chronisch kalzifizierter Pankreatitis erkrank-  
ten Patienten (Serum 22, erheblich erhöhter IgA-  
Spiegel, IgG und IgM im Serum normal) und FITC-  
konjugiertem Anti-IgA.  
Lineare fluoreszenzmikroskopisch positive Ablage-  
rungen um die Membranen von Azinusepithelien.  
Abschnittsweise schwach positiv diffuse Reaktionen  
im Zytoplasma. Kerne negativ.  
Vergrößerung 400fach

Skelettmuskelpräparate: Hier haben wir in den Präparaten PS + Anti-IgA sowie PS + Anti-IgG eine schwache Grünfluoreszenz der Querstreifung, zum Teil auch der Zellgrenzen. Alle anderen Präparate sind negativ.

Leberpräparate: Alle Präparate negativ.

Das Serum Nr. 30 stammte von einem Patienten mit akut rezidivierender Pankreatitis; es hatte normale Antikörperspiegel und reagierte folgendermaßen:

Pankreaspräparate: Auch dieses zweite auf der Sektion Nr. 110/81 untersuchte Patientenserum zeigt nur im Präparat PS + Anti-IgA positive Reaktionen am Pankreas, hier erscheint periazinär eine schwach positive lineare Grünfluoreszenz, außerdem zeigen sich diskontinuierlich in einzelnen Azinozyten positive Reaktionen. Alle anderen Pankreaspräparate sind negativ.

Herzmuskelpräparate: Sie sind alle negativ.

Skelettmuskelpräparate: Die Präparate PS + Anti-IgA, PS + Anti-IgG und PS + Anti-IgM zeigen eine schwache Grünfluoreszenz der Querstreifung; in den Kontrollen PS, Anti-IgA und Anti-IgM fehlt diese Darstellung der Querstreifung, in dem Kontrollschnitt Anti-IgG ist sie jedoch mittelstark positiv. Alle Leberpräparate sind negativ.

Die Patientenserum Nr. 3, 15, 18, 19 und 27 wurden auf Präparaten der Sektion Nr. 122/81 (männl., 20 Jahre, A<sub>2</sub> Rh+, Todesursache zentrales Regulationsversagen nach Aneurysmaruptur) untersucht.

Die Ergebnisse im Einzelnen:

Serum Nr. 3 (weibl., 55 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, normale Ig-Spiegel) von einer Patientin mit chronischer Pankreatitis:

Pankreaspräparate: Die Präparate PS + Anti-IgA, PS + Anti-IgG und PS + Anti-IgM zeigen unterschiedlich starke periazinäre Ig-Ablagerungen. Am stärksten ausgeprägt sind diese Ablagerungen beim Präparat mit Anti-IgA, geringer bei Anti-IgM, nur punktförmig treten sie schließlich bei PS + Anti-IgG auf (siehe Abb. Nr. 3 und 4).

Die Kontrollen sind negativ, lediglich beim Präparat, das nur mit Anti-IgG-Konjugat beschichtet worden war, zeigt sich eine geringe diffuse unspezifische Grünfluoreszenz des Interstitiums.

Herzpräparate: PS + Anti-IgA und PS + Anti-IgG zeigen eine unterbrochene Grünfluoreszenz der Zellaußenseiten; PS + Anti-IgM ist negativ. Die Kontrollen sind negativ bis auf das Präparat Anti-IgG, dieses zeigt ebenfalls eine geringfügige Grünfluoreszenz der Zellaußenseiten.

Skelettmuskelpräparate: PS + Anti-IgA bietet eine unspezifische Darstellung der Querstreifung, PS + Anti-IgG ist negativ, im Präparat PS + Anti-IgM sind Kerne im Perimysium positiv. Von den Kontrollschnitten ist der nur mit Patientenserum beschichtete negativ, die Konjugatkontrollen Anti-IgA, Anti-IgG und Anti-IgM zeigen vereinzelt eine Grünfluoreszenz der Zellaußenseiten.

Leberpräparate: Alle Leberschnitte bis auf PS + Anti-IgM sind negativ, dieses zeigt positive Hepatozytenkerne.

Das Serum Nr. 15 (männl., 44 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, normale Ig-Titer, chronische Pankreatitis), ebenfalls auf Sektion Nr. 122/81 untersucht, ergab:

Pankreaspräparate: Im Präparat PS + Anti-IgA zeigt sich eine wabenartige Struktur der Grünfluoreszenz, hier sind also die Azinozytenaußenseiten positiv dargestellt. Außerdem tritt vereinzelt intraazinär im Lumen Grünfluoreszenz auf. In PS + Anti-IgG haben wir unterschiedlich starke nukleäre Grünfluoreszenz, in PS + Anti-IgM ist wieder eine schwache Wabenstruktur der Grünfluoreszenz angedeutet. Alle Kontrollen sind negativ (siehe Abb. 5).

Herzpräparate: Im Präparat PS + Anti-IgA stellen sich die Muskelzellaußenseiten und die Querstreifung schwach positiv dar, PS + Anti-IgG ist negativ, bei PS + Anti-IgM tritt eine schwache Grünfluoreszenz der Myozytenkerne auf. Die Kontrollen PS, Anti-IgA und Anti-IgM sind negativ, während die Konjugatkontrolle IgG ebenfalls mäßig positive Zellaußenseiten und Querstreifung erkennen läßt.

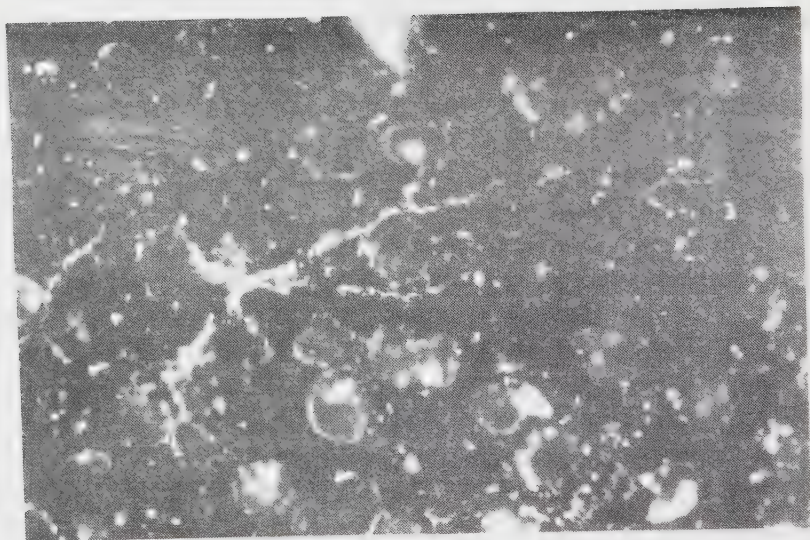
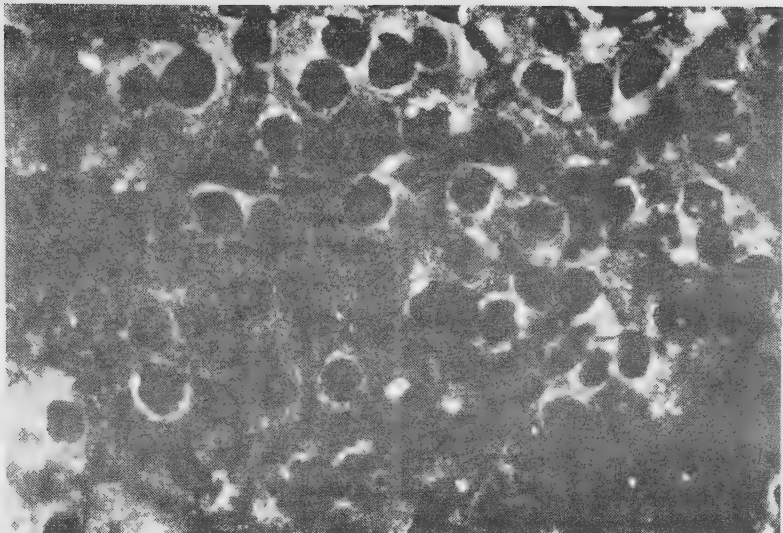


Abb. 3: Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreas-  
gewebe (Autopsiematerial SN 122/81); Serum einer  
an chronischer Pankreatitis erkrankten Patientin  
(Serum Nr. 3, normaler Ig-Spiegel) und FITC-konju-  
giertem Anti-IgG.  
Es finden sich vorwiegend punktförmige periazinäre  
IgG-Ablagerungen, die z.T. auch an einzelne Azinus-  
epithelien gebunden sind. Des weiteren umschrieben  
netz- und punktförmige Ablagerungen im Interstitium.  
Vergrößerung 400fach



bb. 4: Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreas-  
gewebe (Autopsiematerial SN 122/81), Serum einer  
an chronischer Pankreatitis erkrankten Patientin  
(Serum Nr. 3, normaler Ig-Spiegel) und FITC-konju-  
giertem Anti-IgA.  
Periazinär stellen sich vorwiegend im Bereich der  
Basalmembranen teils zirkulär teils inhomogen ange-  
ordnete IgA-Ablagerungen dar. Nur einzelne Azinus-  
epithelien weisen eine positive Immunfluoreszenz  
auf, die in den einzelnen Epithelien sehr stark  
positiv ausfällt.  
Im Interstitium einzelne punktförmige fluoreszenz-  
positive Ablagerungen.

Vergrößerung 400fach

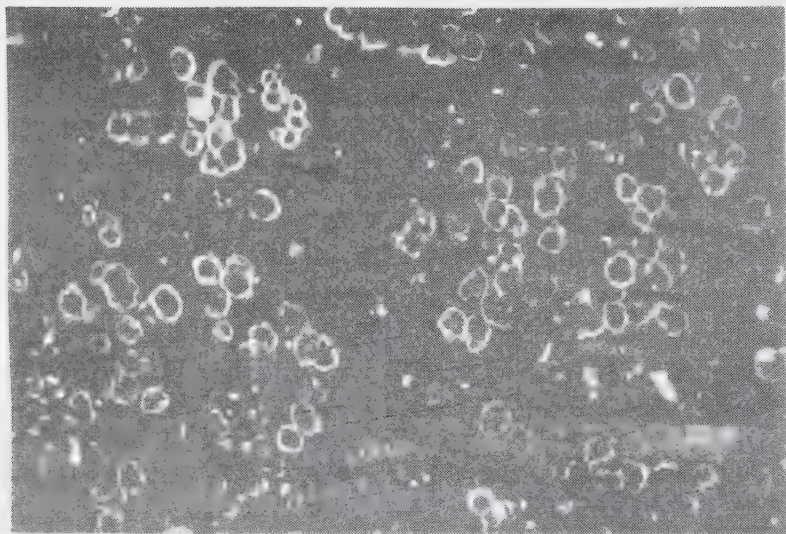


Abb. 5: Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreas-  
gewebe (Autopsiematerial SN 122/81), Serum eines  
an chronischer Pankreatitis erkrankten Patienten  
(Serum Nr. 15, normale Ig-Werte im Serum) und  
FITC-konjugiertem Anti-IgA.  
Lineare Immunfluoreszenz entlang der Basalmembra-  
nen der Azinusepithelien. Die übrigen Zellstruktu-  
ren und das Interstitium sind weitestgehend negativ.  
Vergrößerung 40fach

Skelettmuskelpräparate: PS + Anti-IgA zeigt eine schwache Darstellung der Zellaußengrenzen und der Querstreifung, PS + Anti-IgG und PS + Anti-IgM sind negativ. Die Kontrollen PS sowie Anti-IgM sind ebenfalls negativ, während Anti-IgA und Anti-IgG auch eine schwach positive Darstellung der Zellaus-sengrenzen und zum Teil der Querstreifung aufweisen.

Leberpräparate: Alle Präparate sind negativ, lediglich der Konjugatkontrollschnitt Anti-IgG bietet eine schwache zyto-plasmatische Grünfluoreszenz.

Auch das Serum Nr. 18 von einem 44 Jahre alten Patienten mit chronisch rezidivierender Pankreatitis und Zustand nach Pan-kreasteilresektion, Blutgruppe A<sub>2</sub> Rh+, dessen IgG mittelgradig und dessen IgA stark erhöht waren, wurde auf Sektion Nr. 122/81 untersucht.

Pankreaspräparate: PS + Anti-IgA (IgA im Serum stark erhöht!) zeigt eine schwache zytoplasmatische Grünfluoreszenz, außer-dem eine periazinäre lineare Reaktion (siehe Abb. 6). Im Prä-parat PS + Anti-IgG (IgG im Serum mittelgradig erhöht!) ist das Zytoplasma um die Azinozytenkerne herum positiv. Das Prä-parat PS + Anti-IgM bietet lediglich eine schwache, diffuse, zytoplasmatische Reaktion. Die Kontrollen sind negativ bis auf die Konjugatkontrolle Anti-IgG, hier ist eine schwache, zytoplasmatische Reaktion vorhanden.

Herzpräparate: Die Schnitte PS + Anti-IgA sowie PS + Anti-IgG zeigen mäßig positive Zellaußenseiten und Querstreifungen, Präparat PS + Anti-IgM und alle Kontrollen sind negativ.

Skelettmuskelpräparate: Hier stellen sich im Präparat PS + Anti-IgA die Querstreifen der Myozyten dar, ansonsten sind alle Schnitte negativ.

Leberpräparate: Wir haben schwache, unspezifische zytoplasma-tische Reaktionen im Präparat PS + Anti-IgA sowie positive Kerne bei PS + Anti-IgG. Sonst sind alle Schnitte negativ, lediglich das Kontrollpräparat Anti-IgG zeigt auch eine schwache, unspezifische zytoplasmatische Reaktion.

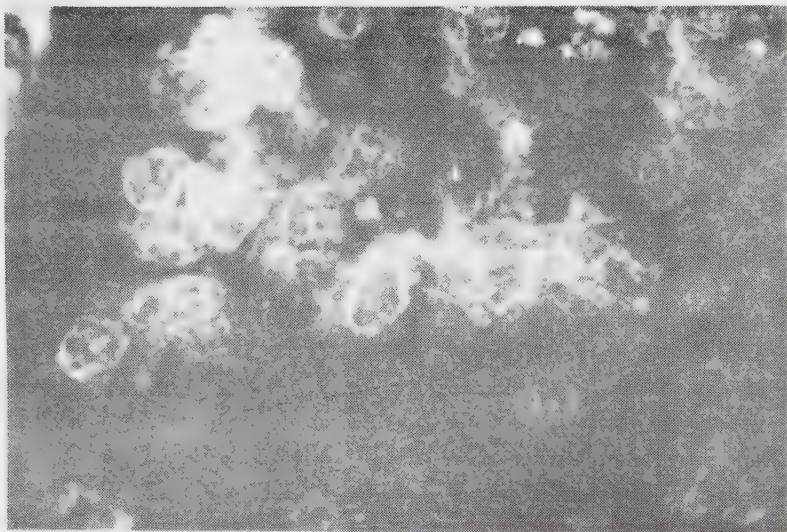


Abb. 6: Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreas-  
gewebe (Autopsiematerial SN 122/81), Serum eines  
an chronisch rezidivierender Pankreatitis erkrank-  
ten Patienten (Serum Nr. 18, erheblich erhöhter  
IgA- und mittelgradig erhöhter IgG-Spiegel, IgM im  
Serum normal) und FITC-konjugiertem Anti-IgA.  
Zahlreiche Azinusepithelien weisen eine membran-  
gebundene z.T. lineare Immunfluoreszenz sowie eine  
inhomogene zytoplasmatische Reaktion auf. Andere  
Azinusepithelien wiederum fallen durch eine äußerst  
schwache und inhomogene zytoplasmatische Darstellung  
auf.

Vergrößerung 600fach

Weiterhin wurde auf Gewebe der Sektion Nr. 122 das Serum Nr. 19, von einem Patienten mit akutem Schub einer chronischen Pankreatitis, Alter 42 Jahre, Blutgruppe A<sub>1</sub>, Rh+, untersucht. In diesem Serum war IgA mittelgradig erhöht.

Pankreaspräparate: PS + Anti-IgA zeigt periazinär eine lineare Grünfluoreszenz, das Präparat PS + Anti-IgG bietet unterschiedlich stark positive zytoplasmatische Reaktionen um die Kerne herum, im Präparat PS + Anti-IgM haben wir eine schwache diffuse zytoplasmatische Reaktion. Alle Kontrollen sind negativ.

Herzpräparate: Hier sind in den Präparaten PS + Anti-IgA sowie PS + Anti-IgG die Querstreifen der Herzmuskelzellen mäßiggradig positiv, alle anderen Schnitte sind negativ.

Skelettmuskelpräparate: In PS + Anti-IgA ist auch die Querstreifung positiv. Hier stellt sich sogar im Kontrollschnitt PS, der also nur mit Patientenserum und nicht mit FITC-markierten Antiseren behandelt worden war, die Querstreifung fluoreszierend dar, was sicherlich auf eine gewisse Eigenfluoreszenz des Gewebes zurückzuführen ist. Sonst sind alle Skelettmuskelpräparate negativ.

Leberpräparate: Alle Präparate sind negativ, lediglich im Kontrollschnitt Anti-IgG tritt eine schwache zytoplasmatische Grünfluoreszenz auf.

Das Serum Nr. 27, von einem 37 Jahre alten Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis und insulinpflichtigem Diabetes mellitus, Blutgruppe A<sub>2</sub> Rh+, mit normalem Antikörper-Spiegel, war das letzte der 5 Seren, die auf Schnitten der Sektion Nr. 122/81 untersucht wurden.

Die Ergebnisse mit diesem Serum:

Pankreaspräparate: Im Präparat PS + Anti-IgA sieht man perinukleäre, zum Teil auch nukleäre Grünfluoreszenz in den Azinocyten; abschnittsweise bietet der Schnitt ferner geringe periazinäre, zytoplasmatische und innerhalb des Azinuskumens auftretende Grünfluoreszenz (siehe Abb. 7). PS + Anti-IgG zeigt allgemein in den Azinocyten fein und grob granuläre Grünfluoreszenz, ferner ist eine geringfügige periazinäre

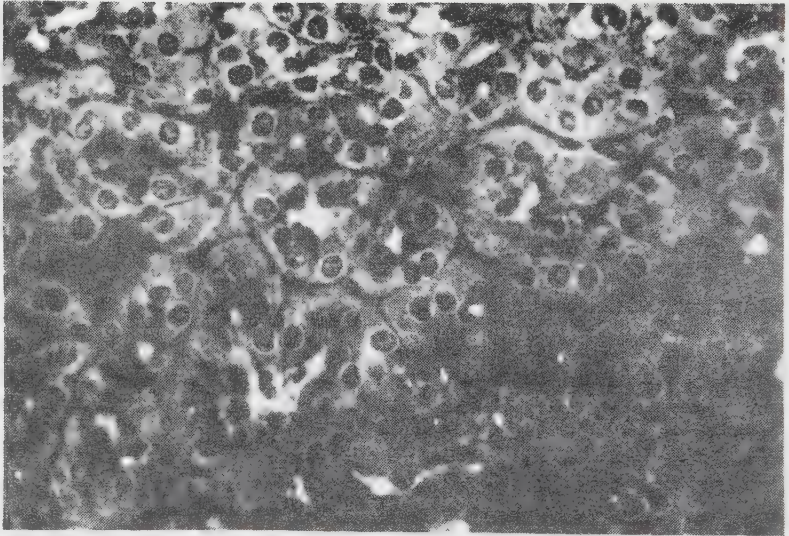


Abb. 7: Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreas-  
gewebe (Autopsiematerial SN 122/81), Serum eines  
mit chronisch kalzifizierter Pankreatitis erkrank-  
tem Patienten mit normalem Ig-Spiegel (Serum Nr. 27)  
und FITC-konjugiertem Anti-IgA.  
Fokal betont positive Immunfluoreszenz innerhalb  
des Azinusbogens und einzelner Schaltstücke sowie  
perinukleär der Azinozyten. Schwach positive Reak-  
tion im Zytoplasma der Azinusepithelien.

Vergrößerung 30fach

und zum Teil auch im Lumen eine intraazidäre Grünfluoreszenz zu beobachten. Im Präparat PS + Anti-IgM finden sich dagegen teils positive, teils negative Azinozytenkerne (siehe Abb. 8). Alle Pankreaskontrollschnitte sind negativ!

Herzpräparate: Das Präparat PS + Anti-IgA zeigt eine lineare Grünfluoreszenz an den Zellaußenwänden, in PS + Anti-IgG sind die Myokardiozytenkerne schwach positiv, das Präparat PS + Anti-IgM ist völlig negativ. Die Kontrolle PS ist negativ, während die Konjugatkontrolle Anti-IgA ebenso wie der Untersuchungsschnitt PS + Anti-IgA eine geringfügige, herdförmige Grünfluoreszenz der Zellaußenseiten zeigt. Die Kontrolle Anti-IgG bietet ebenfalls Grünfluoreszenz der Zellaußenwände, Anti-IgM ist negativ.

Skelettmuskelpräparate: Hier zeigt sich bei PS + Anti-IgA die Querstreifung positiv, bei PS + Anti-IgG sind ebenso wie beim Herzen positive Kerne zu erkennen, PS + Anti-IgM auch hier wie beim Herzen negativ. Von den Kontrollschnitten zeigt lediglich Anti-IgG Querstreifung und zum Teil Zellaußenwände diskontinuierlich positiv, alle anderen sind negativ.

Leberpräparate: Hier haben wir diffus schwach positive Kerne im Präparat PS + Anti-IgA, positive Kerne auch bei PS + Anti-IgM, PS + Anti-IgG ist negativ. Die Kontrollen sind negativ, lediglich Anti-IgG zeigt eine geringe diffuse zytoplasmatische Reaktion auf dem Leberschnitt.

Zusammenfassend kann man für die 5 auf Gewebeschnitten der Sektion Nr. 122/81 untersuchten Seren feststellen:

Mit den Kontrollorganen zeigten alle Seren nur relativ unspezifische Reaktionen, lediglich die Seren Nr. 3 und Nr. 27 zeigten bei den Leberschnitten teilweise Reaktionen mit den Hepatozytenkernen und bei den Skelettmuskelschnitten mit Kernen von Myozyten und Zellen des Perimysiums; ferner reagierten die Seren 27 und 15 schwach mit den Kernen von Herzmuskelzellen. Oft zeigten jedoch auch die Konjugatkontrollabschnitte, die zuvor nicht mit Patientenserum behandelt worden waren, ähnliche unspezifische Reaktionen.

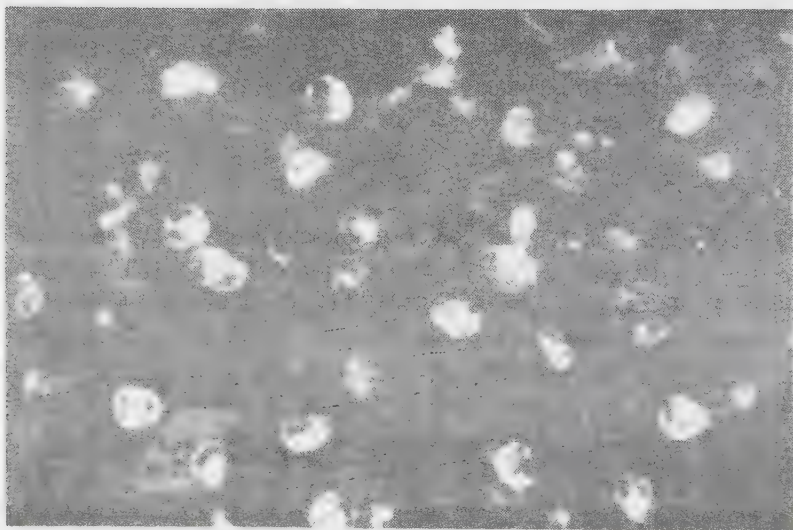


Abb. 8: Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreas-  
gewebe (Autopsiematerial SN 122/81), Serum eines  
mit chronisch kalzifizierter Pankreatitis erkrank-  
ten Patienten mit normalem Ig-Spiegel (Serum Nr. 27)  
und FITC-konjugiertem Anti-IgM.  
Die Kerne der Azinusepithelien stellen sich in unter-  
schiedlichem Maße selektiv dar. Zytoplasma, Zellgren-  
zen und Interstitium sind negativ.

Vergrößerung 600fach

Bei den Pankreaspräparaten hingegen erwiesen sich die Kontrollen durchweg als negativ, die Untersuchungspräparate zeigten jedoch für jedes der 5 Seren eigenständige Ergebnisse.

So bot Serum Nr. 3 Reaktionen aller 3 Antikörperklassen periazinär; Serum Nr. 15 reagierte mit IgA-Antikörpern peri- und intraazinär, mit IgG-Antikörpern nukleär und mit IgM-Antikörpern ebenfalls periazinär.

Serum Nr. 18 lagerte IgA-Antikörper zytoplasmatisch und periazinär, IgG-Antikörper perinukleär und IgM-Antikörper zytoplasmatisch an das Pankreasgewebe an.

Aus dem Serum Nr. 19 waren IgA-Antikörper periazinär, IgG-Antikörper perinukleär und IgM-Antikörper zytoplasmatisch markiert.

Serum Nr. 27 schließlich bot IgA-Antikörper perinukleär, nukleär und periazinär, IgG-Antikörper granulär, periazinär und intraazinär, sowie IgM-Antikörper an die Azinozytenkerne gebunden.

Auf Gewebeschnitten der Sektion Nr. 126/61 (männl., 52 Jahre, O Rh+, Todesursache septischer Schock) wurden die 5 Patientenseren Nr. 8 - 12 untersucht.

Serum Nr. 8 von einem 44jährigen Mann mit Blutgruppe O Rh+, der an chronischer Pankreatitis und Morbus Crohn litt, dessen Antikörnerspiegel im Serum aber normal waren, brachte dabei auf den Pankreaspräparaten die folgenden Ergebnisse:

Präparat PS + Anti-IgA zeigte periazinär eine schmale Grünfluoreszenz, die dem Verlauf der Basalmembran folgt. Ähnlich stellt sich PS + Anti-IgG auf dem Pankreasschnitt dar, während PS + Anti-IgM diffus über das Bild verteilt Azinozyten mit Grünfluoreszenz erkennen läßt. Die Pankreaskontrollpräparate, die lediglich mit Patientenserum (PS) bzw. den verschiedenen Antiseren behandelt wurden, zeigen keinerlei Grünfluoreszenz. Herzmuskelpräparate: Die mit PS + Anti-IgA und mit PS - Anti-IgG behandelten Schnitte sind völlig negativ, das Präparat PS + Anti-IgM zeigt jedoch einzelne schwach positive Myozyten-

kerne. Die Kontrollen, die ausschließlich mit PS bzw. mit Anti-IgA oder Anti-IgM beschichtet sind, erscheinen dagegen negativ. Es haben also offensichtlich IgM-Antikörper aus dem Patientenserum Nr. 8 mit einzelnen Myozytenkernen reagiert. Die Konjugatkontrolle Anti-IgG zeigt teilweise schwach positive Zellaußenseiten.

Skelettmuskelpräparate: Hier ergibt sich interessanterweise das gleiche Bild wie beim Herzmuskel, der mit PS + Anti-IgM behandelte Muskelschnitt läßt einige schwach positive Myozytenkerne erkennen; alle anderen Schnitte und alle Kontrollen sind aber negativ. Auch hier scheint sich also eine Reaktion von Antikörpern aus dem Patientenserum mit Muskelzellkernen abgespielt zu haben.

Leberpräparate: PS + Anti-IgA ergibt keine positiven Reaktionen, das Präparat PS + Anti-IgG zeigt eine herdförmige Grünfluoreszenz einzelner kollagener Faserstrukturen, im mit PS + Anti-IgM behandelten Schnitt sieht man einzelne Hepatozyten mit schwacher Grünfluoreszenz. Alle Kontrollen sind negativ.

Das nächste auf Sektion Nr. 126/81 untersuchte Patientenserum war das Serum Nr. 9. Es stammte von einer 33jährigen Frau, Blutgruppe O Rh+, mit einer akuten Exazerbation einer chronischen Pankreatitis und normalen Ig-Titern im Serum.

Pankreaspräparate: PS + Anti-IgA zeigt positive Azinozytenaußenseiten, woraus sich ein wabenartiges Muster der Grünfluoreszenz ergibt. Die beiden anderen, mit PS + Anti-IgG sowie mit PS + Anti-IgM beschichteten Schnitte zeigen hier keinerlei Grünfluoreszenz, ebenso wie alle 4 Kontrollpräparate des Pankreas.

Herzpräparate: Hier zeigen sich alle Präparate negativ, lediglich beim Schnitt, der nur mit Anti-IgG beschichtet worden war, sind teilweise die Zellaußenseiten schwach positiv. Hierbei sei bemerkt, daß diese Beobachtung bei allen Herzmuskelkontroll-Präparaten, die von dieser Sektion Nr. 126/81 (Seren 8 - 12) angefertigt wurden, gemacht werden konnte; jedoch deutlich nur bei den Präparaten, die lediglich mit Anti-IgG-

Konjugat und nicht zuvor auch mit Patientenserum inkubiert wurden. Es kann sich also hier nicht um eine Reaktion der Patientenserum mit dem Herzmuskel handeln.

Skelettmuskelpräparate: Im mit PS + Anti-IgA behandelten Schnitt ist eine geringe Grünfluoreszenz der Querstreifung zu erkennen, bei PS + Anti-IgG sind teilweise Zellaußenseiten positiv dargestellt, das mit PS + Anti-IgM behandelte Präparat zeigt einzelne schwach positive Myozytenkerne; alle Kontrollen sind dagegen negativ. Bei den Skelettmuskelpräparaten gibt es eine gewisse Ähnlichkeit der auf dieser Sektion untersuchten Seren, da immerhin drei Seren (Nr. 8 - 10 von Nr. 8 - 12) mit IgM-Antikörpern auf einzelne Myozytenkerne reagieren.

Leberpräparate: Außer dem mit PS + Anti-IgG behandelten Schnitt, der vereinzelt schwach positive Hepatozytenaußenseiten bietet, sind alle Präparate einschließlich Kontrollen negativ.

Auf Schnitten von Sektion Nr. 126/81 wurde weiterhin das Serum Nr. 10 von einem 34 Jahre alten Mann mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis und Pankreaspseudozyste untersucht. Das Serum hatte normale Titer aller 3 Ig-Klassen; die Blutgruppe war ebenfalls O Rh+.

Pankreaspräparate: Hier zeigen die mit PS + Anti-IgA sowie mit PS + Anti-IgM behandelten Präparate positive Azinozytenaußenseiten. Im letzteren Schnitt sind diese Erscheinungen sehr schwach, im ersten aber so stark, daß deutlich wieder ein wabenartiges Muster der Grünfluoreszenz wahrgenommen wird. PS + Anti-IgG und die Kontrollen sind negativ.

Herzpräparate: Hier bietet sich ein ähnliches Bild wie bei den anderen 4 Seren. Alle Präparate, bis auf das nur mit Anti-IgG-Konjugat beschichtete, sind negativ. Dieses eine zeigt wiederum teils schwach positive Zellaußenseiten.

Skelettmuskelpräparate: Wieder sind die Präparate bis auf PS + Anti-IgM negativ, dieses zeigt herdförmig einzelne positive Kerne, schwach positive Zellaußengrenzen, teilweise wird auch die Querstreifung der Myozyten sichtbar.

Leberpräparate: Der mit PS + Anti-IgG behandelte Schnitt zeigt disseminiert verteilte Hepatozyten mit mäßiger panzellularer Grünfluoreszenz, sonst sind alle Präparate negativ.

Das auch auf Sektion Nr. 126/81 untersuchte Serum Nr. 11 wurde einem Patienten entnommen, der 24 Jahre alt war, an akut rezidivierender Pankreatitis litt, ebenfalls Blutgruppe O Rh+ hatte, und dessen Ig-Titer im Serum im Bereich der Normwerte lagen. Es brachte die folgenden Ergebnisse:

Pankreaspräparate: Der mit PS + Anti-IgA inkubierte Schnitt ist negativ, PS + Anti-IgG ergibt in mehreren Azinozyten eine schwache Fluoreszenz der Zellkerne, im Präparat PS + Anti-IgM haben wir eine schwache, periazinozytäre Grünfluoreszenz, die wieder an eine Wabenstruktur erinnert. Alle Pankreas-kontrollen sind negativ.

Herzpräparate: Wiederum sind alle Präparate negativ, lediglich die Anti-IgG-Konjugat-Kontrolle läßt teilweise schwach positive Zellaußenseiten erkennen.

Skelettmuskelpreparate: Alle Schnitte sind negativ.

Leberpräparate: Auch alle Leberpräparate zeigen keinerlei Fluoreszenz.

Schließlich wurde noch das Serum Nr. 12 auf Sektion Nr. 126/81 untersucht. Es stammte von einer 40jährigen Patientin mit chronischer Pankreatitis und multiplen Pseudozysten. Das Serum gehörte ebenfalls der Blutgruppe O Rh+ an, seine Ig-Titer waren normal.

Pankreaspräparate: PS + Anti-IgA bietet eine schwache periazinozytäre Grünfluoreszenz, also wieder eine angedeutete Wabenstruktur. Die beiden anderen Präparate PS + Anti-IgG und PS + Anti-IgM sind jedoch wie alle Kontrollen negativ.

Herzmuskelpreparate: Wiederum sind die Präparate negativ, die Anti-IgG-Konjugat-Kontrolle zeigt einzelne schwach positive Zellaußenseiten.

Skelettmuskelpreparate: Der mit PS + Anti-IgA behandelte Gefrierschnitt läßt eine mittelstark positive Darstellung der Querstreifung erkennen, alle anderen Präparate einschließlich Kontrollen sind negativ.

- 4 -

Leberpräparate: In PS + Anti-IgG sieht man disseminiert verteilte Hepatozyten mit mittelstarker Grünfluoreszenz, ansonsten sind alle Schnitte negativ.

Faßt man die Ergebnisse der Untersuchungen der Seren Nr. 8 - 12 auf Gewebeschnitten der Sektion Nr. 126/81 zusammen, so zeigt sich, daß alle 5 Seren Reaktionen auf Pankreasschnitten zeigten, während die Pankreaskontrollpräparate durchweg negativ ausfielen.

So band Serum Nr. 8 IgA- und IgG-Antikörper periazinär entlang der Basalmembran, IgM-Antikörper waren diffus im Zytoplasma der Azinozyten verteilt.

Serum Nr. 9 reagierte mit IgA-Antikörpern an den Außenseiten der Azinozyten des Pankreasschnitts, so daß sich ein wabenartiges Muster der Grünfluoreszenz ergab. IgG- und IgM-Antikörper-Reaktionen konnten bei diesem Serum nicht nachgewiesen werden.

Ein ähnliches Bild ergab sich bei Serum Nr. 10, hier zeigten sich jedoch auch schwach IgM-Antikörper an die Azinozytenaußenseiten gebunden.

Aus dem Serum Nr. 11 reagierten IgG-Antikörper mit einem Teil der Azinozytenkerne, IgM-Antikörper lagerten sich periazinozytär an, so daß wieder eine Wabenstruktur der Grünfluoreszenz entstand. IgA-Antikörper reagierten nicht mit antigenen Bestandteilen des Pankreasschnittes.

Serum Nr. 12 schließlich zeigte mit IgA-Antikörpern eine schwache, periazinozytäre wabenförmige Reaktion, IgG- und IgM-Antikörper banden sich hier nicht ans Pankreasgewebe.

Beim Kontrollorgan Herz gab es außer einigen unspezifischen Reaktionen nur negative Präparate, lediglich Serum Nr. 8 band in geringem Maße IgM-Antikörper an Herzmuskelzellkerne.

Beim Skelettmuskel zeigten dagegen die Seren Nr. 8, 9 und 10 an Myozytenkerne gebundene IgM-Antikörper, sonst waren alle Präparate bis auf die gelegentliche Darstellung von Querstreifen oder Zellaußenseiten negativ.

Die Leberpräparate boten durchweg negative Kontrollschnitte. Serum Nr. 8 band IgG-Antikörper an kollagene Faserstrukturen, IgM-Antikörper wurden durch das Konjugat in einzelnen Hepatozyten sichtbar gemacht.

Serum Nr. 9 reagierte nur mit IgG-Antikörpern an Hepatozytenaußenseiten.

Serum Nr. 10 zeigte eine panzelluläre Grünfluoreszenz in den Hepatozyten, die ebenfalls durch Bindung von Konjugat an im Schnitt fixierte IgG-Antikörper verursacht war.

Serum Nr. 11 bot keinerlei Reaktionen mit den Leberschnitten, während Serum Nr. 12 ebenfalls mit IgG-Antikörpern so reagierte, daß es in disseminiert verteilten Hepatozyten zu mittelstarker Grünfluoreszenz kam. Demnach fällt also auf, daß vier von fünf auf diesem Gewebe getesteten Seren IgG-Antikörper an verschiedene Leberzellstrukturen banden.

Zur nächsten Gruppe wurden die drei Seren Nr. 14, 21 und 26 zusammengefaßt. Sie wurden alle auf Gefrierschnitten der Sektion Nr. 129/81 hinsichtlich des Bindungsvermögens ihrer Antikörper getestet. Alle drei gehörten der Blutgruppe O Rh+ an, ebenso wie der Sektionsfall 129/81. Dabei handelte es sich um einen 68 Jahre alt gewordenen Mann, der nach einer alten Lungenverätzung des Ösophagus eine Perforation erlitten hatte, an die sich eine nekrotisierende Mediastinitis sowie eine Pilzsepsis anschlossen. Auf den Präparaten des Pankreas dieses Mannes zeigte das Serum Nr. 14 (männl., 34 Jahre, O Rh+, normaler Ig-Spiegel) folgende Ergebnisse:

Die mit PS + Anti-IgA sowie mit PS + Anti-IgG behandelten Schnitte ließen eine grobfleckige Grünfluoreszenz des Zytoplasmas der Azinozyten erkennen. Im Präparat PS + Anti-IgM sieht man unterschiedliche starke diffuse Grünfluoreszenz des Zytoplasmas, zum Teil auch der Azinozytenaußenseiten. Alle Kontrollen sind negativ.

Die Herzoräparate einschließlich Kontrollen sind negativ. Skelettmuskelpräparate: PS + Anti-IgA und PS + Anti-IgM sind negativ, im mit PS + Anti-IgG behandelten Präparat dagegen

sieht man eine unterbrochen lineare und punktförmige Grünfluoreszenz der Zellaußenseiten. Allerdings zeigt auch die entsprechende Anti-IgG-Konjugatkontrolle ohne das Patientenserum dasselbe Bild, so daß diese Reaktion wohl nicht auf Antikörper aus dem Serum zurückzuführen ist. Die restlichen Kontrollen sind negativ.

Leberpräparate: Im mit PS + Anti-IgG behandelten Schnitt sieht man einzelne Hepatozytenkerne mit schwacher Grünfluoreszenz, ansonsten sind alle Präparate einschließlich der Kontrollen negativ.

Weiterhin wurde das Serum Nr. 21 mit Material der Sektion 129/81 getestet. Es stammte von einem 39jährigen Mann mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis. Alle drei untersuchten Ig-Klassen lagen quantitativ im Bereich der Norm.

Pankreaspräparate: Im Präparat PS + Anti-IgA ist eine unterschiedlich starke panzelluläre Grünfluoreszenz mehrerer disseminiert verteilter Azinozyten zu sehen. PS + Anti-IgG bietet dagegen um die Pankreaszellen herum punktförmige und lineare Grünfluoreszenz, sowie außerdem eine fleckförmige interstielle Reaktion. Im mit PS + Anti-IgM behandelten Schnitt erkennt man eine wolkige zytoplasmatische Grünfluoreszenz mehrerer Azinozyten, die die Zellkerne jeweils ausspart. Zum Teil ist hier auch in den Lumina der Azini eine granuläre Grünfluoreszenz zu sehen. Alle Pankreaskontrollen sind negativ.

Herzpräparate: Auch hier alle Untersuchungs- und Kontrollpräparate negativ.

Skelettmuskelpräparate: Negativ sind PS + Anti-IgA sowie PS + Anti-IgG, PS + Anti-IgM läßt eine schwache Grünfluoreszenz der Außenseiten der Myozyten sehen. Die Kontrollen PS, Anti-IgA und Anti-IgM sind jedoch negativ, während im nur mit dem Konjugat Anti-IgG beschichteten Schnitt eine unterbrochene lineare und punktförmige Grünfluoreszenz der Zellaußenseiten zu sehen ist.

Leberpräparate: PS + Anti-IgA ist negativ, PS + Anti-IgG zeigt mehrere Hepatozyten mit diffuser zytoplasmatischer

Reaktion. Im mit PS + Anti-IgM behandelten Schnitt kann man in den Portalfeldern lymphoide Zellen sehen, die eine deutliche Grünfluoreszenz aufweisen. Die Kontrollen sind sämtlich negativ.

Das letzte auf Schnitten der Sektion Nr. 129/81 untersuchte Serum war Nr. 26, das von einem 51 Jahre alten Mann entnommen war, der an chronisch rezidivierender Pankreatitis litt. Die Antikörpertiter dieses Serums waren unauffällig.

Pankreaspräparate: In PS + Anti-IgA sind im Lumen der Azini vereinzelt wolkige Grünfluoreszenzen zu sehen. Das Präparat PS + Anti-IgG zeigt (ähnlich dem entsprechenden Präparat des Serums Nr. 21) eine granuläre und lineare perizelluläre Grünfluoreszenz. Weiterhin sind zum Teil sowohl im Interstitium als auch im Zytoplasma der Azinozyten granuläre Reaktionen zu erkennen. Das mit PS + Anti-IgM inkubierte Präparat ähnelt stark dem entsprechenden Präparat des Serums Nr. 21, hier fallen die Reaktionen jedoch schwächer aus. Auch hier aber wolkige zytoplasmatische Grünfluoreszenz mehrerer Azinozyten unter Aussparung der Kerne sowie granuläre Grünfluoreszenz in den Lumina der Azini. Alle Kontrollschnitte sind negativ. Die Herzpräparate sind ebenso alle negativ.

Skelettmuskelpräparate: Hier haben wir im mit PS + Anti-IgG behandelten Schnitt eine mäßige, herdförmige Darstellung der Querstreifen sowie in der dazugehörigen Konjugatkontrolle Anti-IgG eine unterbrochen lineare und punktförmige Grünfluoreszenz der Zellaußenseiten, sonst sind alle Präparate negativ.

Auch alle Leberpräparate zeigen keinerlei Grünfluoreszenz.

Zusammenfassend läßt sich für die drei auf Schnitten des Sektionsfalles Nr. 129/81 untersuchten Seren Nr. 14, 21 und 26 feststellen:

Pankreaspräparate: Das Serum Nr. 14 lagert IgA-, IgG- und IgM-Antikörper im Zytoplasma der Azinozyten ab, IgM-Antikörper zusätzlich auch an Außenseiten der Azinozyten.

Serum Nr. 21 lagert IgA-Antikörper panzellulär in disseminiert verteilten Azinozyten, IgG-Antikörper punktförmig und linear perizellulär sowie auch fleckförmig interstitiell, und schließlich IgM-Antikörper ebenfalls im Zytoplasma mehrerer Azinozyten, wobei die Zellkerne ausgespart bleiben, sowie granulär im Lumen der Azini ab.

IgA-Antikörper des Serums Nr. 26 finden sich im Lumen der Azini, ferner sind wie bei Serum Nr. 21 IgG-Antikörper perizellulär und im Interstitium in Form von Granula gebunden. Zusätzlich finden sie sich zudem teilweise in granulärer Anordnung im Zytoplasma verschiedener Azinozyten. IgM-Antikörper finden sich auch hier durch wolkige zytoplasmatische Grünfluoreszenz mehrerer Azinozyten unter Kernaussparung markiert. Zum Teil lassen sich auch Granula in den Lumina der Azini erkennen.

Die Patientenserum- und Konjugatkontrollen (PS, Anti-IgA, Anti-IgG, Anti-IgM) sind für alle 3 Seren völlig negativ. Ebenso sind alle mit den Seren Nr. 14, 21 und 26 angefertigten Herzpräparate negativ.

Bei den Skelettmuskelnpräparaten tritt vereinzelt eine mäßige Darstellung der Querstreifung und der Außengrenzen der Muskelzellen auf, die jedoch auch in den Konjugatkontrollen ohne vorherige Inkubation mit den entsprechenden Patientenserum beobachtet werden kann.

Auf den Leberpräparaten bindet das Serum Nr. 14 IgG-Antikörper an einzelne Hepatozytenkerne, ebenfalls IgG-Antikörper aus dem Serum Nr. 21 bedingen eine diffuse zytoplasmatische Grünfluoreszenz mehrerer Hepatozyten. Außerdem banden sich IgM-Antikörper aus Serum Nr. 21 an lymphoide Zellen, die in den Portalfeldern zu sehen waren. Alle anderen Leberpräparate waren wie die Kontrollschnitte negativ.

Die Seren Nr. 1, 13 und 20 wurden auf Schnitten von Organen des Sektionsfalles Nr. 134/81 untersucht. Bei diesem Fall handelte es sich um eine 60 Jahre alt gewordene Frau, die

bei Diabetes mellitus, Hypertonie und allgemeiner Atherosklerose als Grundleiden an den Folgen einer Hirnmassenblutung gestorben war. Ihre Blutgruppe war A Rh+.

Serum Nr. 1 stammte von einer 29 Jahre alten Frau, die seit 1,5 Jahren die Anamnese einer idiopathischen chronisch rezidivierenden Pankreatitis bot. Sie hatte bis dahin 5 - 6 Schübe erlitten, ihre Blutgruppe war A<sub>1</sub> Rh+, die Spiegel der 3 Immunglobulinklassen IgA, IgG und IgM in ihrem Serum lagen im Bereich der Norm.

Die Pankreaspräparate gaben folgende Ergebnisse:

Bei dem mit Patientenserum und Anti-IgA-Konjugat behandeltem Schnitt zeigt sich eine unterschiedlich starke, insgesamt jedoch schwach ausgeprägte Wabenstruktur der Grünfluoreszenz, d.h. eine linear periazinozytär angeordnete Lagerung der IgA-Antikörper des Serums am Leichenpankreas. Eine ebensolche schwache Wabenstruktur zeigt sich im Präparat PS + Anti-IgM, während diese Reaktion bei PS + Anti-IgG-Verwendung deutlich stärker ausgeprägt war (siehe Abb. 9). Es sind demnach alle 3 Immunglobuline periazinozytär nachzuweisen, da auch alle Kontrollen, der Nativschnitt, der nur mit PS beschichtete Schnitt, sowie die drei Konjugatkontrollen negativ ausfielen.

Herzpräparate: PS + Anti-IgG zeigt unterschiedlich stark positive Kerne in den Herzmuskelzellen, in der Konjugatkontrolle Anti-IgG sind dagegen die Zellaußenseiten unterbrochen linear positiv. Alle anderen Herzschnitte zeigen keine Fluoreszenz.

Skelettmuskelpräparate: Hier bietet sich ein ähnliches Bild wie beim Herzen, ebenfalls das Präparat PS + Anti-IgG zeigt Zellaußenseiten linear positiv, jedoch sind in der Konjugatkontrolle Anti-IgG ohne vorherige Inkubation mit Patientenserum die Zellaußenseiten auch genauso dargestellt.

Leberpräparate: Bis auf die Konjugatkontrolle Anti-IgG sind alle Untersuchungs- und Kontrollschnitte negativ. Dieses eine Präparat stellt vereinzelt Kerne von Hepatozyten positiv dar.

Das danach mit SN 134/81 untersuchte Serum Nr. 13 war einer 36jährigen Patientin mit chronisch kalzifizierender Pankreati-

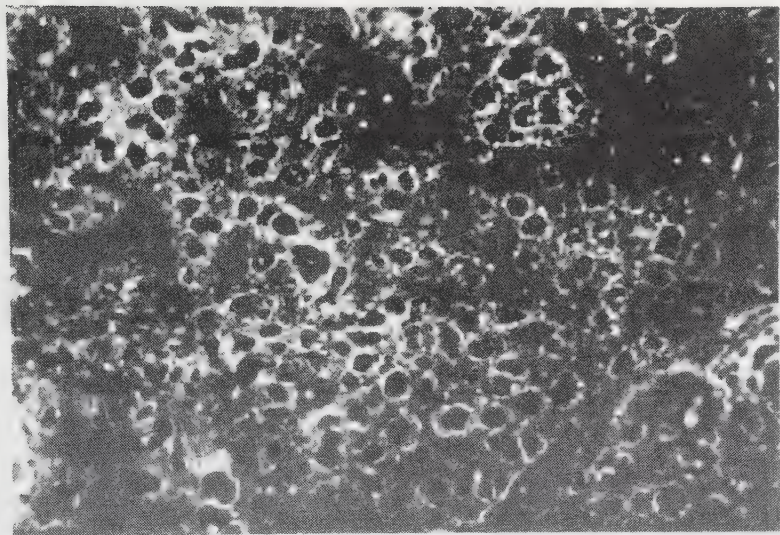


Abb. 9: Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreas-  
gewebe (Autopsiematerial SN 134/81), Serum einer  
an chronisch rezidivierender Pankreatitis erkrank-  
ten Patientin (Serum Nr. 1, normaler Ig-Spiegel)  
und FITC-konjugiertem Anti-IgG.

Die fluoreszenzoptisch nachweisbaren Ablagerungen  
ordnen sich überwiegend periazinär im Bereich der  
Basalmembranen an und umgeben die Azini ring- und  
wabenförmig. Das Interstitium ist bis auf einzelne  
kleine punktförmige Ablagerungen unauffällig.

Vergrößerung 40fach

tis entnommen worden. Die Patientin hatte die Blutgruppe A<sub>1</sub> rh-, die Ig-Titer in ihrem Serum waren normal.

Die Pankreaspräparate PS + Anti-IgA sowie PS + Anti-IgM waren wie alle Kontrollschnitte eindeutig negativ. Das Präparat, das mit PS + Anti-IgG behandelt worden war, zeigte hingegen stark positive Kerne in den Azinozyten (siehe Abb. 10 und 11), auch Gangepithelien stellen sich dar. Da die Konjugatkontrolle Anti-IgG völlig negativ ist, müssen hier IgG-Antikörper des Patientenserums an antigene Determinanten der Azinozytenkerne des Leichenpankreas gebunden haben.

Herzmuskelpräparate: Alle Schnitte bis auf das Präparat PS + Anti-IgG sowie die Kontrolle Anti-IgG sind negativ. Diese beiden Präparate zeigen in gleicher Weise eine unterbrochen lineare Grünfluoreszenz der Muskelzellaußenseiten. Es ist daher nicht anzunehmen, daß Antikörper aus dem Patientenserum mit den Myozyten reagiert haben.

Skelettmuskelpräparate: Hier haben wir das gleiche Bild wie beim Herzen, jedoch stellen sich im mit PS + Anti-IgG behandelten Präparat noch vereinzelt Querstreifungen dar.

Leberpräparate: Die Schnitte PS + Anti-IgA sowie PS + Anti-IgG sind negativ, das Präparat PS + Anti-IgM bietet einzelne schwach positive Kerne, die Kontrollen sind negativ bis auf die Anti-IgG-Konjugatkontrolle, bei der vereinzelt Kerne positiv aufleuchten.

Weiterhin wurde Serum Nr. 20 mit Sektion Nr. 134/81 getestet. Es war von einer 38 Jahre alten Patientin gewonnen worden, die an chronisch kalzifizierender Pankreatitis litt. Ihre Blutgruppe war A<sub>2</sub> rh-, die Spiegel der 3 Immunglobuline in ihrem Serum lagen im Bereich der Norm.

Pankreaspräparate: PS + Anti-IgA zeigt hier eine schwache Wabenstruktur der Grünfluoreszenz, die IgA-Antikörper haben sich also periazinozytär angelagert. Ferner ist eine geringfügige nukleäre Grünfluoreszenz zu beobachten. Im mit PS + Anti-IgG behandelten Schnitt ist diese nukleäre Grünfluoreszenz sehr deutlich, sie tritt generalisiert in sämtlichen

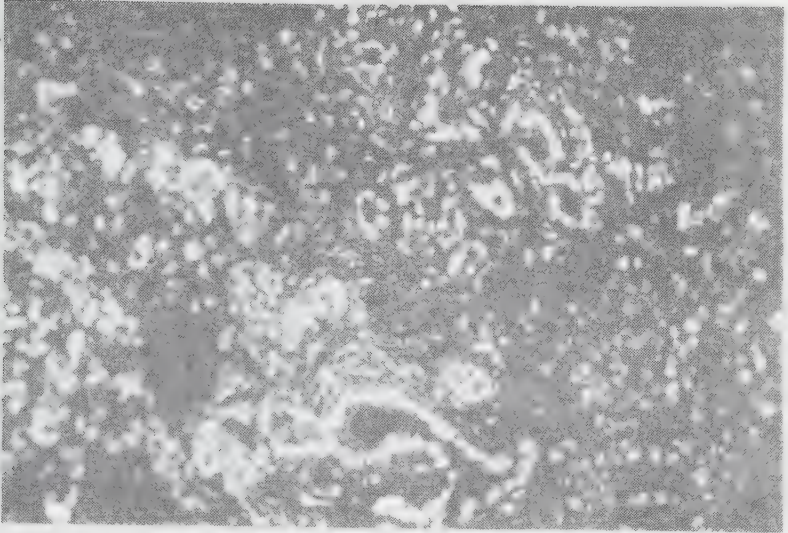


Abb. 10: Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreas-  
gewebe (Autopsiematerial SN 134/81), Serum einer  
an chronisch kalzifizierter Pankreatitis erkrank-  
ten Patientin (Serum Nr. 13, normaler Ig-Spiegel)  
und FITC-konjugiertem Anti-IgG.  
Die Kerne der Azinusepithelien fallen durch eine  
unterschiedlich stark ausgeprägte, z.T. erhebliche  
positive Immunfluoreszenz auf. In gleicher Weise  
stellen sich die Gangepithelien dar. Basalmembranen  
und Interstitium sind unauffällig.

Vergrößerung 40fach



**Abb. 11:** Indirekte Immunfluoreszenz mit normalem Pankreas-  
gewebe (Autopsiematerial SN 134/81), Serum einer  
an chronisch kalzifizierter Pankreatitis erkrank-  
ten Patientin (Serum Nr. 13, normaler Ig-Spiegel)  
und FITC-konjugiertem Anti-IgG.  
Hier gleichartige Veränderungen wie in der Abb. 10  
beschrieben. Die Immunfluoreszenz ist selektiv auf  
die Epithelkerne beschränkt.

Vergrößerung 600fach

Azinozytenkernenauf. Das Präparat PS + Anti-IgM sowie die Kontrollen sind dagegen alle negativ.

Herzpräparate: PS + Anti-IgA ist negativ, in den Präparaten PS + Anti-IgG und PS + Anti-IgM sind z.T. Kerne der Herzmuskelzellen positiv dargestellt, im letzteren nur sehr vereinzelt und schwach. Die Kontrollen sind negativ, lediglich im Präparat Anti-IgG sind Zellaußenseiten positiv unterbrochen linear dargestellt.

Skelettmuskelpräparate: Die Präparate sind negativ, lediglich die mit PS + Anti-IgG sowie nur mit Anti-IgG behandelten Schnitte weisen eine Darstellung der Zellaußenseiten auf, die folglich sicher nicht durch Antikörper aus dem Patientenserum verursacht sind.

Leberpräparate: Auch die Leberpräparate lassen keine Reaktionen des Serums erkennen, lediglich der mit PS + Anti-IgG beschichtete Schnitt läßt wie die entsprechende Konjugatkontrolle Anti-IgG einzelne schwach positive Hepatozytenkerne erkennen.

Die Ergebnisse der mit Material von Sektion Nr. 134/81 untersuchten Seren Nr. 1, 13 und 20 zusammengefaßt:

Die Pankreaspräparate bringen unterschiedliche Auswertungen. So bindet Serum Nr. 1 Antikörper aus allen 3 Immunglobulin-Klassen periazinozytär, so daß eine Wabenstruktur der Grünfluoreszenz entsteht.

Serum Nr. 13 reagiert mit IgG-Antikörpern an den Azinozytenkernen, IgA- und IgM-Antikörper zeigen keinerlei Reaktion. IgA-Antikörper aus Serum Nr. 20 binden sich periazinozytär und sehr schwach an die Kerne der Azinuszellen, bei den IgG-Antikörpern ist die Reaktion mit den Kernen der Pankreaszellen sehr deutlich ausgeprägt. IgM-Antikörper reagieren nicht.

Die Pankreaskontrollpräparate sind für alle 3 Seren völlig negativ.

Bei den Herzmuskelschnitten zeigte Serum Nr. 1 Reaktionen von IgG-Antikörpern mit den Kernen, außerdem bindet Serum

Nr. 20 IgG- und IgM-Antikörper an einzelne Herzmuskelzellkerne, sonst ergibt sich lediglich teilweise eine Darstellung von Zellgrenzen oder Querstreifen, die auch in den Kontrollpräparaten auftritt.

Auch bei den Skelettmuskelpräparaten werden vereinzelt Querstreifen und Zellaußenseiten sowohl in den Untersuchungs- als auch in den Kontrollpräparaten dargestellt.

Leberpräparate: Hier zeigte das Serum Nr. 13 in schwachem Ausmaße an einzelne Hepatozytenkerne gebundene IgM-Antikörper. Im mit dem Patientenserum Nr. 20 + Anti-IgG behandelten Leberschnitt sind ebenfalls einzelne Kerne schwach positiv zu sehen. Allerdings zeigen die Konjugat-Kontrollpräparate, die ausschließlich mit Anti-IgG beschichtet wurden, für alle 3 Seren ebenfalls vereinzelt positive Kerne.

Die noch verbleibenden 6 Seren der Untersuchungsgruppe der Patienten mit chronischer Pankreatitis, die Nummern 4, 23, 28, 29, 31 und 17 wurden schließlich alle auf Gewebeschnitten von Organen des Sektionsfalles Nr. 143/81 untersucht. Dies war die Leiche einer 77 Jahre alt gewordenen Frau mit Diabetes mellitus und Atherosklerose, die an einem Kreislaufversagen verstorben war. Ihre Blutgruppe war O Rh+.

Bei dieser Untersuchungsserie wurden die Konjugatkontrollen Anti-IgA, Anti-IgG und Anti-IgM aus Zeitgründen nicht für jedes einzelne Serum neu angefertigt (also insgesamt je 6mal), sondern es wurden von jedem Organ 3 Schnitte angefertigt und mit den verschiedenen Konjugaten beschichtet. Diese Konjugatkontrollen dienten dann für alle 6 Seren. Das Kontrollpräparat, das nur mit Patientenserum inkubiert wurde, mußte natürlich für jedes der 6 Seren angefertigt werden. Es sei gleich vorweggenommen, daß diese Kontrollen bei Pankreas, Herz und Muskel durchweg negativ ausfielen, bei den Leberschnitten zeigten sie nach Inkubation mit Anti-IgA-Konjugat einzelne Hepatozyten mit schwacher zytoplasmatischer Grünfluoreszenz nach Inkubation mit Anti-IgG-Konjugat konnte eine schwache ringförmige Grünfluoreszenz um einzelne Hepatozyten beobachtet

werden. Die Leber-Konjugatkontrolle Anti-IgM sowie die 6 ausschließlich mit den verschiedenen Patientenseren beschichteten Kontrollschnitte waren negativ.

Bei der Besprechung der einzelnen Ergebnisse braucht also auf die Kontrollpräparate nicht mehr eingegangen werden.

Das zunächst untersuchte Serum Nr. 4 stammte von einer 58 Jahre alten Frau, die an einem Schub einer akut rezidivierenden Pankreatitis litt. Ihre Blutgruppe war B<sub>1</sub> Rh+, IgA- und IgG-Titer waren in ihrem Serum normal, wohingegen der Spiegel von IgM stark erhöht war.

Die Pankreaspräparate: PS + Anti-IgA zeigt interstitiell eine diffuse, schwache Grünfluoreszenz. Das mit PS + Anti-IgG behandelte Präparat hat dagegen im Zytoplasma der Azinozyten eine feinkörnige Grünfluoreszenz; der mit PS + Anti-IgM inkubierte Schnitt (IgM war im PS stark erhöht) zeigt eine unterschiedlich starke Grünfluoreszenz der Zellkerne der Azinozyten sowie ebenfalls unterschiedlich starke Fluoreszenz der periazinären Region. Kontrollen wie oben beschrieben negativ.

Herzpräparate: Bei negativen Kontrollen zeigen die Präparate PS + Anti-IgG sowie PS + Anti-IgM mehrere schwach positive Herzmuskelzellkerne, PS + Anti-IgA ist negativ.

Skelettmuskelpräparate: Präparat PS + Anti-IgM zeigt eine Fluoreszenz einzelner Kerne, die anderen Schnitte sind wie die oben geschilderten Kontrollen negativ.

Leberpräparate: Die mit PS + Anti-IgA und mit PS + Anti-IgG behandelten Leberschnitte bieten perizellulär eine schmale Grünfluoreszenz, zudem sind einzelne Hepatozytenkerne positiv. Im Präparat PS + Anti-IgM fehlt der perizelluläre Randsaum, hier färben sich nur einzelne Hepatozytenkerne an.

Das nächste Serum dieser Untersuchungsserie war Nr. 17, von einem Patienten mit einem akuten Schub einer chronisch kalzifizierenden Pankreatitis. Der Patient war 40 Jahre alt, hatte die Blutgruppe O rh-, seine Antikörpertiter im Serum waren normal. Die Auswertung:

Pankreaspräparate: In PS + Anti-IgA sieht man schwache, diffuse, interstitielle Reaktionen, das Präparat PS + Anti-IgG läßt ebenfalls diffuse, interstitielle Grünfluoreszenz erkennen, die aber zum Teil körnige und grobstraßige Form annimmt. PS + Anti-IgM sowie die Kontrollen sind negativ.

Herzpräparate: PS + Anti-IgA ist negativ, in den mit PS + Anti-IgG und PS + Anti-IgM inkubierten Schnitten kann man positive Herzmuskelzellkerne sehen; Kontrollen sind negativ.

Skelettmuskelpreparate: Das Präparat PS + Anti-IgG zeigt einzelne schwach positive Kerne, Kontrollen und übrige Präparate negativ.

Leberpräparate: Von den Leberschnitten sind die Präparate PS + Anti-IgA sowie PS + Anti-IgG auffällig. Ersteres bringt ganz vereinzelt schwach positive Kerne, während beim letzteren die Kerne vermehrt unterschiedlich stark positiv sind. PS + Anti-IgM ist negativ, die Kontrollen sind wie oben beschrieben.

Sodann wurde Serum Nr. 23 untersucht. Es stammte von einer 35 Jahre alten Frau mit akutem Schub einer chronischen Pankreatitis, die der Blutgruppe AB Rh+ angehörte und deren IgM-Spiegel erniedrigt war. IgA- und IgG-Titer waren normal. Von den Pankreaspräparaten zeigte das mit PS + Anti-IgA beschichtete Exemplar eine schwache, diffuse interstitielle Grünfluoreszenz. Im Schnitt PS + Anti-IgG sind Zellkerne deutlich positiv dargestellt. Das mit PS + Anti-IgM behandelte Präparat ergänzt eine schwache diffuse interstitielle Grünfluoreszenz mit der Darstellung vereinzelter positiver Kerne. Kontrollen sind negativ.

Herzpräparate: Präparat PS + Anti-IgA ist negativ, bei PS + Anti-IgG sind disseminiert Kerne dargestellt, zum Teil leuchten auch Zellaußengrenzen auf. PS + Anti-IgM zeigt ebenfalls ganz vereinzelt schwach positive Kerne. Kontrollen sind negativ.

Skelettmuskelpreparate: Sie ähneln den Herzschnitten, auch hier zeigt der mit PS + Anti-IgG behandelte Schnitt disseminiert positive Kerne, bei PS + Anti-IgM kann man einzelne schwach positive Kerne erkennen.

Leberpräparate: Auch bei den Leberschnitten ist PS + Anti-IgA negativ, PS + Anti-IgG zeigt dagegen perizelluläre und vereinzelt nukleäre Grünfluoreszenz, bei PS + Anti-IgM haben wir ganz vereinzelt nukleäre Grünfluoreszenz. Kontrollen siehe oben.

Das nächste Patientenserum dieser Serie war Nummer 28. Es gehörte zu einem 55jährigen Patienten mit chronisch rezidivierender Pankreatitis, Blutgruppe AB Rh+ und mäßiggradig erhöhtem IgG-Spiegel. Die Titer der beiden anderen Immunglobuline lagen im Normbereich.

Auswertung der Pankreaspräparate: Auch bei diesem Serum im mit PS + Anti-IgA inkubierten Exemplar herdförmige, mäßiggradige, diffuse interstitielle Grünfluoreszenz. Das Präparat PS + Anti-IgG zeigt periazinär eine unterschiedlich dichte Grünfluoreszenz aller Abschnitte, PS + Anti-IgM und die Kontrollen sind negativ.

Herzpräparate: In den Präparaten PS + Anti-IgA und PS + Anti-IgG haben wir einzelne schwach positive Herzmuskelzellkerne, PS + Anti-IgM und die Kontrollen sind negativ.

Skelettmuskelpräparate sind sämtlich negativ.

Leberpräparate: In den Präparaten PS + Anti-IgA und PS + Anti-IgG kann man einzelne schwach positive Kerne erkennen, PS + Anti-IgM ist negativ, die Kontrollen sind wie oben beschrieben.

Serum Nr. 29, von einem 29jährigen Patienten mit chronischer Pankreatitis und Pankreaspseudozyste, Blutgruppe O Rh+, mit stark erhöhtem IgG- und mittelgradig erhöhtem IgM-Spiegel ergab:

Pankreaspräparate: Wieder im Präparat PS + Anti-IgA eine schwache, diffuse interstitielle Reaktion. Das Präparat PS + Anti-IgG bietet in nahezu allen Kernen nachweisbare mäßiggradige Grünfluoreszenz, außerdem grobstrahlige periazinäre und intraazinäre Grünfluoreszenz. Im mit PS + Anti-IgM behandelten Schnitt sieht man eine mittelstarke Fluoreszenz der Zellkerne der Azinocyten.

Herzpräparate: Das Präparat PS + Anti-IgG bietet positive Kerne von Herzmuskelzellen. Die übrigen Schnitte einschließlich Kontrollen sind negativ.

Skelettmuskelpräparate: PS + Anti-IgA zeigt eine geringe unterbrochene Fluoreszenz der Myozytenaußenseiten, im Präparat PS + Anti-IgG sind wie beim entsprechenden Herzschnitt die Muskelzellkerne positiv. Alle übrigen Präparate sind ohne Fluoreszenz.

Leberpräparate: Der mit PS + Anti-IgA behandelte Schnitt zeigt eine mittelstarke, diffuse interstitielle Fluoreszenz, PS + Anti-IgG und PS + Anti-IgM sind negativ.

Letztes auf 143/81 untersuchtes Serum war das Serum Nr. 31. Es stammte von einem Patienten, der 40 Jahre alt war, an chronischer Pankreatitis und Pankreaspseudozysten litt, dessen Blutgruppe AB Rh+ war, und dessen IgA-Serum-Titer bei normalen IgG- und IgM-Spiegeln mäßiggradig erhöht war. Die Ergebnisse dieses Serums auf den Organschnitten der Sektion 143/81:

Pankreaspräparate: Das mit PS + Anti-IgA behandelte Präparat bringt ähnlich den anderen 5 auf 143/81 untersuchten Patientenserum eine diffuse interstitielle Grünfluoreszenz. Es besteht kein Unterschied zu Seren ohne IgA-Erhöhung. Im Präparat PS + Anti-IgG sind die Kerne unterschiedlich stark positiv, das Zytoplasma ist generalisiert schwach positiv, zum Teil treten auch grobsträßige interstitielle Reaktionen auf. Der Schnitt mit PS + Anti-IgM ist wie die Kontrollen negativ.

Herzpräparate: Die Präparate PS + Anti-IgA sowie PS + Anti-IgG bieten einzelne schwach positive Kerne, PS + Anti-IgM und die Kontrollen sind negativ.

Muskelpräparate: PS + Anti-IgA ist negativ, im mit PS + Anti-IgG behandelten Schnitt sieht man Zellaußenseiten linear positiv dargestellt, in PS + Anti-IgM sind einzelne schwach positive Kerne zu sehen.

Leberpräparate: Die Präparate PS + Anti-IgG sowie PS + Anti-IgM zeigen einzelne positive Kerne, PS + Anti-IgA ist hingegen negativ.

Faßt man die Ergebnisse der 6 auf Organschnitten des Sektionsfalles 143/81 untersuchten Patientenserum zusammen, so kann man feststellen:

Pankreas: Alle 6 Seren lagern IgA-Antikörper diffus im Interstitium des Gewebes ab. Unterschiedliche Resultate zeigen sich bei den IgG-Antikörpern:

Serum Nr. 4 zeigt hier feinkörnige, zytoplasmatische Reaktionen. Serum Nr. 23 bindet IgG-Antikörper ausschließlich an Azinozytenkerne, während Antikörper dieser Klasse aus Serum 20 sich in allen Präparatabschnitten unterschiedlich dicht periazinär anlagern. Serum Nr. 29 reagiert mit IgG in den meisten Kernen und außerdem peri- und intraazinär. Auch Serum Nr. 31 bindet IgG-Antikörper an Zellkerne, reagiert damit weiterhin im Zytoplasma aller Azinozyten und auch im Interstitium, wo es zu grobstraßigen IgG-Niederschlägen kommt, während Serum Nr. 17 nur diffuse interstitielle IgG-Reaktionen zeigt, die zum Teil körnige und grobstraßige Formen annehmen.

Mit IgM-Antikörpern reagieren nur die Seren Nr. 4, 23 und 29, die übrigen sind hier negativ.

Serum Nr. 4 zeigt dabei Azinozytenkerne und periazinäre Regionen unterschiedlich stark positiv; Nr. 23 lagert IgM-Antikörper ebenfalls an einzelne Zellkerne an und zeigt auch eine schwache, diffuse interstitielle Reaktion. Serum Nr. 29 lagert IgM-Antikörper so deutlich an Azinozytenkernen ab, daß es dort zu einer mittelstarken Grünfluoreszenz kommt.

Die Pankreaskontrollen waren alle negativ.

Bei den Schnitten des Herzmuskels, der wie Leber und Skelettmuskel als Kontrollorgan diente, zeigten alle sechs Seren Reaktionen mit den Herzmuskelzellkernen.

So lagerte Serum Nr. 4 IgG- und IgM-Antikörper so an die Myozytenkerne an, daß es dort zu einer schwachen Grünfluoreszenz kam. Ebenso sind IgG- und IgM-Antikörper aus dem Serum Nr. 23 durch die entsprechenden Konjugate vereinzelt schwach an Zellkernen markiert. Serum Nr. 28 zeigt schwache Reaktionen von IgA und IgG an den Kernen der Herzmuskelzellen, bei Serum Nr. 29 binden nur IgG-Antikörper an die Kerne.

Das Serum Nr. 31 reagiert wie Nr. 28 schwach mit IgA und IgG, Serum Nr. 17 dagegen zeigt an Kerne gebundene IgG- und IgM-Antikörper. Auch alle Herzkontrollschnitte sind negativ.

Auf den Skelettmuskelschnitten sind die Reaktionen der sechs Seren weniger ausgeprägt.

Serum Nr. 28 zum Beispiel reagiert überhaupt nicht. Serum Nr. 4 zeigt eine Bindung von IgM-Antikörpern an einzelne Myozytenkerne, Nr. 23 reagiert mit IgG und IgM schwach ebenfalls an einzelnen Kernen des Präparats. Nr. 29 lagert in geringem Maße IgA an Zellaußenseiten ab und bindet IgG-Antikörper an die Kerne der Myozyten. Serum Nr. 31 stellt nach der Kopplung mit den entsprechenden Konjugaten mit IgG Zellaußenseiten linear und mit IgM Kerne schwach positiv dar. Aus dem Serum Nr. 17 schließlich reagieren nur IgG-Antikörper schwach mit den Zellkernen. Auch alle Kontrollpräparate der Skelettmuskelschnitte sind negativ.

Die Leberpräparate zeigen Reaktionen aller sechs Seren, allerdings reagieren hier auch 2 der Konjugatkontrollen, es sind nämlich die ausschließlich mit Anti-IgA bzw. mit Anti-IgG inkubierten Leberschnitte positiv. Die Anti-IgA-Konjugatkontrolle bietet eine schwache Fluoreszenz im Zytoplasma einzelner Hepatozyten, während das Anti-IgG-Konjugat eine schwache ringförmige Fluoreszenz um einzelne Hepatozyten des Schnittes verursacht. Die Patientenserum reagieren alle bis auf Nr. 29 an den Hepatozytenkernen sowie perizellulär, und zwar meist mit IgA und IgG, schwache IgM-Reaktionen an den Kernen zeigen auch 4, 23 und 31. Diese 3 Seren reagierten übrigens auch auf den Skelettmuskelschnitten mit IgM an den Muskelzellkernen (siehe oben). Serum Nr. 29 zeigte auf den Leberpräparaten lediglich diffuse interstitielle Reaktionen von IgA.

#### 4.2.2. Seren von Patienten ohne Pankreaserkrankungen (Kontrollgruppe)

Die Präparate mit den Seren der Patienten aus der Kontrollgruppe wurden ebenso angefertigt wie diejenigen aus der Untersuchungsgruppe. Kontrollorgane waren auch hier Herzmuskel, Skelettmuskel und Leber.

Die Kontrollseren Nr. 1a, 2a, 3a, 4a und 5a wurden 2mal untersucht, zunächst auf Organschnitten der Sektion Nr. 146/81, wobei auch alle Präparate der 3 Kontrollorgane angefertigt wurden. Dann wurden noch einmal nur Pankreaspräparate vom Autopsiematerial des Sektionsfalles Nr. 151/81 hergestellt.

Auf den Pankreaspräparaten der Sektion Nr. 146/81 waren die Seren Nr. 1a, 3a, 4a und 5a völlig negativ, es zeigten sich keinerlei Reaktionen irgendeiner Immunglobulinklasse mit dem Gewebe.

Auch das Kontrollserum Nr. 2a zeigte keine Reaktionen von IgA und IgG, lediglich im Präparat PS + Anti-IgM waren in einem einzigen Lobulus des Pankreasschnittes einzelne Azinozyten mit einer sehr schwachen Fluoreszenz des Zytoplasmas zu erkennen; alle übrigen Parenchymschnitte dieses Präparates waren negativ.

Sämtliche Pankreaskontrollpräparate aller 5 Seren waren negativ. Daraufhin wurden die 5 Seren noch einmal auf Pankreasgewebe des Sektionsfalles Nr. 151/81 inkubiert. Diese Präparate waren alle ohne Ausnahme einschließlich Kontrollen negativ.

Mehr und stärkere Reaktionen zeigten die Kontrollseren dagegen bei den Kontrollorganen Herz, Muskel und Leber. Dabei waren diese Ergebnisse durchaus mit denen der Untersuchungsseren auf den Kontrollorganen zu vergleichen.

Bei den Herzmuskelpräparaten reagierten die Seren Nr. 1a und 2a mit IgG an einzelnen Kernen im Interstitium, das Serum Nr. 3a band IgG disseminiert an Kerne von Herzmuskelzellen; ansonsten zeigten diese Seren auf den Herzschnitten keine Reaktionen. Kontrollserum Nr. 4a reagierte mit IgG dissemi-

niert an Herzmuskelzellkernen, ferner auch an Außengrenzen und herdförmig an der Querstreifung von Herzmuskelzellen. Außerdem band es IgM-Antikörper an die Zellkerne. IgG aus Serum Nr. 5a lagerte sich schließlich an einzelne Kerne an, IgM-Antikörper reagierten mit einigen Zellaußenseiten. Alle Herzmuskelkontrollpräparate waren dabei negativ.

Auch auf den Skelettmuskelschnitten zeigten alle 5 Kontrollseren Reaktionen. So banden alle IgG-Antikörper an Kerne im Interstitium, am ausgeprägtesten das Serum Nr. 3a. Mit IgM-Antikörpern reagierte keines der Seren, während bei IgA unterschiedliche Resultate erzielt wurden.

Serum Nr. 1a zeigte keine IgA-Reaktionen, Nr. 2a und Nr. 5a banden es unterbrochen linear an einzelne Zellaußenseiten, während bei Nr. 3a und Nr. 4a IgA an einzelnen Kernen im Interstitium reagierte. Die Kontrollpräparate waren auch hier alle negativ.

Auch die Leberpräparate boten verschiedene Reaktionen aller Kontrollseren.

So band Nr. 1a IgA unterschiedlich stark an Strukturen im Zytoplasma der Leberepithelien, bei dem auf IgG-Antikörper untersuchten Schnitt kam es zu geringgradiger diffuser zytoplasmatischer Grünfluoreszenz einzelner Hepatozyten, mit IgM gab es keine Reaktion.

Serum Nr. 2 bietet im mit PS + Anti-IgA inkubierten Schnitt vereinzelt eine schwache Fluoreszenz im Zytoplasma der Hepatozyten, sonst ist es negativ.

Bei Serum Nr. 3a banden sich an einzelne Hepatozytenkerne schwach IgA-Antikörper, alle anderen Präparate mit diesem Serum sind negativ.

IgA-Antikörper aus dem Serum Nr. 4a führen nach Inkubation mit dem Anti-IgA-Konjugat zu einer schwachen Grünfluoreszenz einzelner Hepatozyten, IgG-Antikörper stellen Zellaußenseiten und teilweise Leberzellkerne dar, während IgM nicht reagiert. Bei der Untersuchung des Serums Nr. 5a zeigt das Präparat PS + Anti-IgA eine herdförmige Grünfluoreszenz im Bereich des Zytoplasmas einzelner Leberzell-Lamellen, die anderen

Präparate sind negativ.

Die Leberkontrollpräparate PS, Anti-IgG und Anti-IgM sind alle negativ. Lediglich die mit dem Konjugat Anti-IgA beschichteten Schnitte zeigen an den Hepatozytenaußenseiten eine unterbrochene ...

| ORGANE   | P R O B E N |              |               | K O N T R O L L E N |         |         |         | SERUM - NR.<br>SEKTION - NR.                    |
|----------|-------------|--------------|---------------|---------------------|---------|---------|---------|-------------------------------------------------|
|          | PS+AntilgA  | PS+AntilgG   | PS+AntilgM    | PS                  | AntilgA | AntilgG | AntilgM |                                                 |
| PANKREAS | gr, n, Z ++ | p, gr, ++    | n ++          | -                   | -       | -       | -       | 5 / crP / A+<br>SEKTION 82 / 81                 |
| HERZ     | -           | -            | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| MUSKEL   | -           | Q +          | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| LEBER    | -           | -            | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| PANKREAS | in +        | il, gr +     | p, in +       | -                   | in +    | in +    | -       | 16 / ccP / n<br>SEKTION 97 / 81                 |
| HERZ     | in, Za +    | -            | -             | -                   | in +    | -       | in +    |                                                 |
| MUSKEL   | Q hf +      | -            | -             | -                   | Q hf +  | Q hf +  | -       |                                                 |
| LEBER    | -           | -            | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| PANKREAS | p ++        | p, gr, in ++ | p ++          | -                   | p ++    | -       | -       | 24 / cP / M++<br>SEKTION 97 / 81                |
| HERZ     | -           | Z +          | Z +           | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| MUSKEL   | -           | diss. Nied.  | -             | -                   | Z +     | Z, Q +  | -       |                                                 |
| LEBER    | -           | -            | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| PANKREAS | Z +         | -            | -             | -                   | -       | -       | -       | 22 / ccP / A++<br>SEKTION 110/81                |
| HERZ     | -           | -            | -             | -                   | -       | Z +     | -       |                                                 |
| MUSKEL   | Q+, (Z+)    | Q+, (Z+)     | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| LEBER    | -           | -            | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| PANKREAS | p, a +      | -            | -             | -                   | -       | -       | -       | 30 / aE / n<br>SEKTION 110/81                   |
| HERZ     | -           | -            | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| MUSKEL   | Q +         | Q, Za +      | Q, Za +       | -                   | -       | Q ++    | -       |                                                 |
| LEBER    | -           | -            | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| PANKREAS | p ++        | p ++         | p +           | -                   | -       | in +    | -       | 3 / cP / n<br>SEKTION 122/81                    |
| HERZ     | Z +         | Z +          | -             | -                   | -       | Z +     | -       |                                                 |
| MUSKEL   | Q +         | -            | Perimykerne + | -                   | (Z +)   | Z +     | (Z +)   |                                                 |
| LEBER    | -           | -            | n +           | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| PANKREAS | pL i, il +  | n ++         | pt +          | -                   | -       | -       | -       | 15 / cP / n<br>SEKTION 122/81                   |
| HERZ     | Za, Q +     | -            | (n +)         | -                   | -       | Za, Q+  | -       |                                                 |
| MUSKEL   | Za, Q +     | -            | -             | -                   | Za, Q+  | Za, Q+  | -       |                                                 |
| LEBER    | -           | -            | -             | -                   | -       | (c +)   | -       |                                                 |
| PANKREAS | c, p +      | c ++         | c +           | -                   | -       | c +     | -       | 18 / crP / AntGt <sup>o</sup><br>SEKTION 122/81 |
| HERZ     | Za, Q +     | Za, Q +      | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| MUSKEL   | Q ++        | -            | -             | -                   | -       | -       | -       |                                                 |
| LEBER    | c +         | n ++         | -             | -                   | -       | c +     | -       |                                                 |

| ORGANE   | P R O B E N           |                         |                          | K O N T R O L L E N |                      |                      |                      | SERUM - NR.<br>SEKTION - NR. |
|----------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|------------------------------|
|          | PS+Antib <sup>+</sup> | PS+Antib <sup>+</sup> G | PS+Antib <sup>+</sup> CM | PS                  | Antib <sup>+</sup> A | Antib <sup>+</sup> C | Antib <sup>+</sup> A |                              |
| PANKREAS | p ++                  | p, n ++                 | c +                      | -                   | -                    | -                    | -                    | 19 / cP / A1<br>SEKTION 122  |
| HERZ     | Q +                   | Q +                     | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| MUSKEL   | Q +                   | -                       | -                        | (D+)                | -                    | -                    | -                    |                              |
| LEBER    | -                     | -                       | -                        | -                   | -                    | c +                  | -                    |                              |
| PANKREAS | p, pn, n ++           | gr, p, i, il ++         | n- / ++                  | -                   | -                    | -                    | -                    | 27 / ccP / n<br>SEKTION 122  |
| HERZ     | Za ++                 | n +                     | -                        | -                   | Za +                 | (Za +)               | -                    |                              |
| MUSKEL   | Q +                   | n +                     | -                        | -                   | -                    | Q, Za +              | -                    |                              |
| LEBER    | (n +)                 | -                       | n ++                     | -                   | -                    | c +                  | -                    |                              |
| PANKREAS | p ++                  | p ++                    | c ++                     | -                   | -                    | -                    | -                    | 8 / cP / n<br>SEKTION 126    |
| HERZ     | -                     | -                       | n +                      | -                   | -                    | Za +                 | -                    |                              |
| MUSKEL   | -                     | -                       | n +                      | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| LEBER    | -                     | kF +                    | c +                      | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| PANKREAS | pt ++                 | -                       | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    | 9 / aE / n<br>SEKTION 126    |
| HERZ     | -                     | -                       | -                        | -                   | -                    | Za +                 | -                    |                              |
| MUSKEL   | Q +                   | Za +                    | n +                      | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| LEBER    | -                     | (Za +)                  | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| PANKREAS | pt +                  | -                       | Aa +                     | -                   | -                    | -                    | -                    | 10 / ccP / n<br>SEKTION 126  |
| HERZ     | -                     | -                       | -                        | -                   | -                    | Za +                 | -                    |                              |
| MUSKEL   | -                     | -                       | Za, Q+, (n+)             | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| LEBER    | -                     | (c +)                   | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| PANKREAS | -                     | n +                     | pt +                     | -                   | -                    | -                    | -                    | 11 / aE / n<br>SEKTION 126   |
| HERZ     | -                     | -                       | -                        | -                   | -                    | Za +                 | -                    |                              |
| MUSKEL   | -                     | -                       | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| LEBER    | -                     | -                       | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| PANKREAS | pt +                  | -                       | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    | 12 / cP / n<br>SEKTION 126   |
| HERZ     | Q +                   | -                       | -                        | -                   | -                    | Za +                 | -                    |                              |
| MUSKEL   | Q ++                  | -                       | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| LEBER    | -                     | c ++                    | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| PANKREAS | c ++                  | c ++                    | c, Aa ++                 | -                   | -                    | -                    | -                    | 14 / cP / n<br>SEKTION 129   |
| HERZ     | -                     | -                       | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |
| MUSKEL   | -                     | Za +                    | -                        | -                   | -                    | Za +                 | -                    |                              |
| LEBER    | -                     | (n +)                   | -                        | -                   | -                    | -                    | -                    |                              |

Tab. 7b

| ORGANE   | P R O B E N   |                  |               | K O N T R O L L E N |         |         |         | SERUM - NR.<br>SEKTION - NR. |
|----------|---------------|------------------|---------------|---------------------|---------|---------|---------|------------------------------|
|          | PS+AntiIgA    | PS+AntiIgG       | PS+AntiIgM    | PS                  | AntiIgA | AntiIgG | AntiIgM |                              |
| PANKREAS | pc + / +++    | pt, in ++        | c, gr, il ++  | -                   | -       | -       | -       | 21 / ccP / n<br>SEKTION 129  |
| HERZ     | -             | -                | -             | -                   | -       | -       | -       |                              |
| MUSKEL   | -             | -                | Za +          | -                   | -       | Za +    | -       |                              |
| LEBER    | -             | c +              | IZ +          | -                   | -       | -       | -       |                              |
| PANKREAS | il ++         | pt, gr, in, c ++ | c, gr, il +   | -                   | -       | -       | -       | 26 / ccP / n<br>SEKTION 129  |
| HERZ     | -             | -                | -             | -                   | -       | -       | -       |                              |
| MUSKEL   | -             | Q +              | -             | -                   | -       | Za +    | -       |                              |
| LEBER    | -             | -                | -             | -                   | -       | -       | -       |                              |
| PANKREAS | pt +          | pt +             | pt, in +      | -                   | -       | -       | -       | 1 / ccP / n<br>SEKTION 134   |
| HERZ     | -             | n + / +++        | -             | -                   | -       | Za +    | -       |                              |
| MUSKEL   | -             | Za +             | -             | -                   | -       | Za +    | -       |                              |
| LEBER    | -             | -                | -             | -                   | -       | (n +)   | -       |                              |
| PANKREAS | -             | n +++            | -             | -                   | -       | -       | -       | 13 / ccP / n<br>SEKTION 134  |
| HERZ     | -             | Za +             | -             | -                   | -       | Za +    | -       |                              |
| MUSKEL   | -             | Za, Q +          | -             | -                   | -       | Za +    | -       |                              |
| LEBER    | -             | -                | (n +)         | -                   | -       | (n +)   | -       |                              |
| PANKREAS | pt, n +       | n +++            | -             | -                   | -       | -       | -       | 20 / ccP / n<br>SEKTION 134  |
| HERZ     | -             | n hf ++          | n hf ++       | -                   | -       | Za +    | -       |                              |
| MUSKEL   | -             | (Za +)           | -             | -                   | -       | Za +    | -       |                              |
| LEBER    | -             | n hf +           | -             | -                   | -       | n hf +  | -       |                              |
| PANKREAS | in +          | c ++             | n, p + / +++  | -                   | -       | -       | -       | 4 / aE / M++<br>SEKTION 143  |
| HERZ     | -             | n hf +           | n hf +        | -                   | -       | -       | -       |                              |
| MUSKEL   | -             | -                | n hf +        | -                   | -       | -       | -       |                              |
| LEBER    | phc +, n hf - | phc +, n hf +    | n hf +        | -                   | (c +)   | (phc +) | -       |                              |
| PANKREAS | in +          | in ++            | -             | -                   | -       | -       | -       | 17 / ccP / n<br>SEKTION 143  |
| HERZ     | -             | n ++             | n ++          | -                   | -       | -       | -       |                              |
| MUSKEL   | -             | (n hf +)         | -             | -                   | -       | -       | -       |                              |
| LEBER    | (n hf +)      | n + / ++         | -             | -                   | (c +)   | (phc +) | -       |                              |
| PANKREAS | in +          | n +++            | in +, n hf ++ | -                   | -       | -       | -       | 23 / aE / M+<br>SEKTION 143  |
| HERZ     | -             | Za, n + / ++     | (n hf +)      | -                   | -       | -       | -       |                              |
| MUSKEL   | -             | n hf +           | (n hf +)      | -                   | -       | -       | -       |                              |
| LEBER    | -             | phc ++, n +      | n hf +        | -                   | (c +)   | (phc +) | -       |                              |

Tab. 7c

| ORGANE   | P R O B E N |                 |            | K O N T R O L L E N |         |         |         | SERUM - NR.<br>SEKTION - NR. |
|----------|-------------|-----------------|------------|---------------------|---------|---------|---------|------------------------------|
|          | PS+AntiIgA  | PS+AntiIgG      | PS+AntiIgM | PS                  | AntiIgA | AntiIgG | AntiIgM |                              |
| PANKREAS | in ++       | p + /+++        | -          | -                   | -       | -       | -       | 28/crP/G+<br>SEKTION 143     |
| HERZ     | (n hf +)    | (n hf +)        | -          | -                   | -       | -       | -       |                              |
| MUSKEL   | -           | -               | -          | -                   | -       | -       | -       |                              |
| LEBER    | (n hf +)    | (n hf +)        | -          | -                   | (c +)   | (phc +) | -       |                              |
| PANKREAS | in +        | n, p, i ++      | n ++       | -                   | -       | -       | -       | 29/cP/G+ M+<br>SEKTION 143   |
| HERZ     | -           | n ++            | -          | -                   | -       | -       | -       |                              |
| MUSKEL   | Za +        | n ++            | -          | -                   | -       | -       | -       |                              |
| LEBER    | in ++       | -               | -          | -                   | (c +)   | (phc +) | -       |                              |
| PANKREAS | in + /++    | n+/+++, c, in++ | -          | -                   | -       | -       | -       | 31/crP/A+<br>SEKTION 143     |
| HERZ     | (n hf +)    | (n hf +)        | -          | -                   | -       | -       | -       |                              |
| MUSKEL   | -           | Za +            | n +        | -                   | -       | -       | -       |                              |
| LEBER    | -           | n + /+++        | n hf +     | -                   | (c +)   | (phc +) | -       |                              |

Tab. 7a - d: Ergebnisse der mit den Untersuchungsseren  
(Patienten mit chronischer Pankreatitis)  
angefertigten Untersuchungspräparate.

Legende für Tab. 7a - d und Tab. 8:

PS = Patientenserum

Anti-IgA = FITC - markiertes Antiserum vom Kaninchen  
gegen menschl. IgA (entspr. IgG und IgM)

crP = chronisch rezidivierende Pankreatitis

cP = chronische Pankreatitis

ccP = chronisch kalzifizierende Pankreatitis

aE = akute Exazerbation einer chronischen Pankreatitis

A, G und M hinter den Nummern und Diagnosenkurzbezeichnungen

der Seren stehen für die Immunglobuline IgA, IgG und IgM,  
↑ = mittelgradige bzw. ↑↑ = starke Erhöhung oder ↓ = mittel-

gradige Erniedrigung des entsprechenden Immunglobulins.  
" n " an dieser Stelle bedeutet, daß die Ig-Titer dieses

Serums im Normbereich liegen (siehe Tab. 1).

a = azinär, Aa = Azinozytenaußenseiten, c = cytoplasmatisch,  
gr = granulär, hf = herdförmig, i = intraazinär, il = intra-  
luminal, in = interstitiell, kF = kollagene Fasern, LZ =  
lymphoide Zellen, n = nukleär, p = periazinär, z.T. membran-  
gebunden, pc = panzellulär, phc = panhepatozytär, pn = peri-  
nukleär, pt = periazinozytär, Q = Querstreifung, Z = Zell-  
membran, Za = Zellaußenseite.

-/+ /++ /+++ = Grünfluoreszenz negativ/schwach pos. / (mäßig-  
gradig) positiv/stark positiv

| ORGANE   | P R O B E N     |                 |            | K O N T R O L L E N |         |         | SERUM - NR.<br>SEKTION - NR. |
|----------|-----------------|-----------------|------------|---------------------|---------|---------|------------------------------|
|          | PS+AntilgA      | PS+AntilgG      | PS+AntilgM | PS                  | AntilgA | AntilgG | AntilgM                      |
| PANKREAS | -               | -               | -          | -                   | -       | -       | -                            |
| HERZ     | -               | Kerne i. Int.++ | -          | -                   | -       | -       | 1 a / n                      |
| MUSKEL   | -               | Kerne i. Int.++ | -          | -                   | -       | -       | SEKTION 146                  |
| LEBER    | c + / +++       | c +++           | -          | -                   | Za +    | -       | -                            |
| PANKREAS | -               | -               | -          | -                   | -       | -       | -                            |
| HERZ     | -               | Kerne i. Int.++ | -          | -                   | -       | -       | 2 a / A <sup>1</sup>         |
| MUSKEL   | Za ++           | Kerne i. Int.++ | -          | -                   | -       | -       | SEKTION 146                  |
| LEBER    | c +             | -               | -          | -                   | Za +    | -       | -                            |
| PANKREAS | -               | -               | -          | -                   | -       | -       | -                            |
| HERZ     | -               | n + / +++       | -          | -                   | -       | -       | 3 a / n                      |
| MUSKEL   | Kerne i. Int.++ | Kerne i. Int.++ | -          | -                   | -       | -       | SEKTION 146                  |
| LEBER    | n +             | -               | -          | -                   | Za +    | -       | -                            |
| PANKREAS | -               | -               | -          | -                   | -       | -       | -                            |
| HERZ     | -               | n, Za, Q ++     | n ++       | -                   | -       | -       | 4 a / A + M <sub>1</sub>     |
| MUSKEL   | Kerne i. Int.++ | Kerne i. Int.++ | -          | -                   | -       | -       | SEKTION 146                  |
| LEBER    | c +             | n, Za ++        | -          | -                   | Za +    | -       | -                            |
| PANKREAS | -               | -               | -          | -                   | -       | -       | -                            |
| HERZ     | -               | n ++            | Za ++      | -                   | -       | -       | 5 a / n                      |
| MUSKEL   | Za ++           | Kerne i. Int.++ | -          | -                   | -       | -       | SEKTION 146                  |
| LEBER    | c +             | -               | -          | -                   | Za +    | -       | -                            |

Tab. 8: Ergebnisse der mit den Kontrollseren (Patienten ohne Pankreaserkrankung) angefertigten Präparate. (Anmerkung: Alle Kontrollseren wurden zusätzlich noch auf Pankreasschnitten der Sektion Nr. 151/81 untersucht, diese Präparate waren ebenfalls alle negativ).

Legende wie Tab. 7a - d

## 5. Diskussion

Lange Zeit wurde unter Immunität zunächst allgemein der Schutz vor Krankheiten verstanden. Erst RICHET und PORTIER machten 1902 die wichtige Entdeckung, daß mit einem bestimmten Eiweiß immunisierte Hunde bei einem zweiten Kontakt mit diesem Antigen mit schweren, anaphylaktischen Krankheitsbildern reagierten. Nachdem dieser Anfang zur Erforschung allergischer, also pathogener Immunreaktionen gemacht worden war, erhob sich nach und nach die Frage, ob eine Immunisierung gegen körpereigene Substanzen als Krankheitsursache gelten könne. Erst durch die Entdeckung der "Immunologischen Toleranz" durch BILLINGHAM, MEDAWAR und BURNET (1956, 1959) und die weitere Erforschung der Immunisierungsmechanismen konnten Möglichkeiten zur Autoimmunisierung erklärbar werden.

In der vorliegenden Arbeit wird eine mögliche Autoimmunreaktion gegen eigenes Pankreasgewebe als auslösender Faktor einer chronischen Pankreatitis beim Menschen diskutiert.

### 5.1. Aufbau und Arbeitsweise des menschlichen Immunsystems

Neben den unspezifischen Abwehrmechanismen, deren zelluläre Komponente Mikro- und Makrophagen und deren humorale Komponente Stoffe wie z.B. Interferon oder Leukotaxin sind, verfügt der menschliche Körper über eine hier im Vordergrund des Interesses stehende spezifische Resistenz, deren Träger das Immunsystem ist.

Grundbedingung für die Möglichkeit des Organismus, spezifisch auf Fremdkörper reagieren zu können, ist die Fähigkeit zwischen "Selbst" und "Nichtselbst" zu unterscheiden. Zum

"Nichtselbst" gehörende Substanzen, die in der Lage sind, eine Immunreaktion auszulösen, bezeichnet man als Antigene. Dies können z.B. Kontaktallergene, Gewebsantigene, Mukopolysaccharide und Mukoproteine, belebte Erreger und Toxine und vieles andere mehr sein.

Diese antigenen Substanzen stimulieren immunkompetente Zellen, von denen sie erkannt werden können. Diese Zellen reagieren gegen die betreffenden Antigene, indem sie Antikörper (Immunglobuline) oder "spezifisch sensibilisierte" Zellen bilden.

Auch bei den spezifischen Abwehrmechanismen wird also zwischen humoraler Immunität (durch Antikörper vermittelt) und zellulärer Immunität (durch spezifisch sensibilisierte Immunzellen vermittelt) unterschieden. Beide Formen haben ihren Ursprung in verschiedenen Teilen des Immunsystems.

#### 5.1.1. Zelluläre Immunität - Thymusabhängiges Immunsystem - T-Lymphozyten

Die zelluläre spezifische Immunität hat als Grundbedingung das Vorhandensein spezifisch reagibler lymphoider Zellen, der T-Lymphozyten. Diese haben ihre Stammzellen im Knochenmark. Abkömmlinge der Stammzellen, die sogenannten kleinen Lymphozyten gelangen während der intrauterinen Entwicklung in die äußere Thymusrinde. Dort teilen sie sich. Die entstehenden Tochterzellen wandern teils ins Thymusmark, wo sie meist zugrunde gehen, teils bleiben sie in der Rinde lokalisiert. Die in der Rinde verbleibenden Lymphozyten teilen sich beständig weiter. Dabei entstehen viele verschiedene Mutanten, die jeweils auf ein eigenes spezifisches Antigen ansprechen können. Hier im Thymus erfolgt also die Differenzierung und immunologische Prägung der T-Lymphozyten (daher T-, für thymusabhängig), es entstehen immunkompetente Zellen. Somit ist der Thymus das primäre Immunorgan des zellulären

Immunsystems. Die dort differenzierten Lymphozyten wandern in die thymusabhängigen Gebiete des peripheren lymphatischen Systems. Dies sind z.B. die subkortikalen Lymphknoten-Regionen und die periarteriellen Regionen der Milz.

In diesen peripheren Gebieten, vor allem in der inneren Rindenzone der Lymphknoten, kann nun ein im Thymus bereits geprägter, immunkompetenter T-Lymphozyt durch antigene Stimulation zu Differenzierung und Proliferation angeregt werden. Dabei kommt es in diesen Organteilen im histologischen Bild zu einer bunten Hyperplasie. Die immunologisch kompetenten T-Lymphozyten transformieren in große, blastenartige Zellen (T-Immunoblasten). In diesen findet eine gesteigerte RNA-Bildung statt, auf die DNA-Synthese und Mitoseaktivität folgen. Die Immunoblasten proliferieren wiederum in kleine lymphoide Zellen, die entweder als sogenannte Effektorzellen in die Blutbahn gelangen und dort mit dem betreffenden Antigen reagieren oder bestimmte Faktoren (Lymphokinine) freisetzen. Das sind z.B. Stoffe, die chemotaktisch auf Monozyten wirken, sie damit "anlocken" und danach ihre Migrationsfähigkeit hemmen und zudem ihre Phagozytoseaktivität steigern. Dadurch verbleiben die Makrophagen an der Stelle der Antigenwirkung. Weitere Mediatoren bewirken entzündliche Ödeme, Ansammlung und Vermehrung nicht spezifisch reagibler Lymphozyten sowie zytotoxische Wirkung am Ort der Antigenwirkung. Für diese sogenannte Primärreaktion sind also Effektorzellen verantwortlich.

Neben diesen mit den Antigenen reagierenden Effektorzellen bildet sich auch ein Pool von zirkulierenden T-Lymphozyten, die die sogenannten Gedächtniszellen ("memory-cells") darstellen. Bei einem erneuten Kontakt des Organismus mit dem gleichen Antigen wird nun die Reaktion des T-Zellsystems früher und stärker als beim ersten Mal einsetzen, da bereits spezifisch antigenreaktive T-Lymphozyten, die Gedächtniszellen, zur Verfügung stehen, um sofort wieder einerseits "effectorcells" und andererseits "memory cells" zu produzieren. Man bezeichnet dies als Sekundärreaktion. Primär- und Sekundärreaktionen des T-Systems laufen im Verhältnis zu

den Reaktionen des thymusunabhängigen B-Zellsystems zeitlich verzögert ab, so daß man sie als Spätreaktionen oder "Reaktionen vom Spättyp" bezeichnet.

Bei dieser zellulären spezifischen thymusabhängigen Immunität reagieren also lymphozytenständige Antikörper mit den Antigenen. Diese Antikörper werden nicht ins Blut freigegeben, sondern bleiben immer auf den T-Lymphozyten haften. Die T-Lymphozyten rezirkulieren beständig über Blut- und Lymphbahnen im Organismus. Nach der Passage durch die Lymphknoten gelangen sie über den Ductus thoracicus ins Blut. In der Milz sammeln sie sich in den periarteriolen Scheiden an, über die Sinus der roten Pulpa gelangen sie auch in der Milz in den Blutkreislauf. Sie befinden sich also ständig auf einer Wanderung Blut - Lymphe - Blut - Lymphe. In den Lymphknoten ist die innere Rindenzone der Ort der zellulären spezifischen Immunantwort. Hier sind dabei unter dem Bild einer "bunten Pulpahyperplasie" zahlreiche aktivierte Lymphozyten und Immunoblasten zu sehen. In der weißen Pulpa der Milz ist die direkt um die Zentralarterien gelegene Region das Gebiet der T-Lymphozyten. Das daran anschließende Gewebe der Follikel ist dagegen der Sitz der von den B-Lymphozyten bewerkstelligten Produktion humoraler Antikörper. Als primäres Immunorgan des T-Zellsystems ist also der Thymus, als sekundäres Organ sind die genannten Bezirke der Lymphknoten und der Milz anzusehen.

Die zirkulierenden T-Lymphozyten sind im Gegensatz zu den B-Lymphozyten sehr langlebig (Monate - Jahre).

Antigene, die eine zelluläre Immunantwort hervorrufen und T-Lymphozyten aktivieren, sind vor allem Bakterien, Viren und Protozoen. Auch die Transplantationsimmunität (Histoinkompatibilitätsantigene), das Kontaktekzem (Kontaktallergene, z.B. bestimmte chemische Substanzen) sowie die Tuberkulinreaktion haben ihre Ursache in zellulären spezifischen Immunantworten, also in Immunreaktionen vom Spättyp.

### 5.1.2. Humorale Immunität - Thymusunabhängiges Immunsystem - B-Lymphozyten

Die B-Lymphozyten sind von einer immunologischen Prägung durch den Thymus unabhängig. Sie vermitteln die humorale Immunität, d.h. sie übernehmen die Produktion von im Blut zirkulierenden Antikörpern, sind aber selbst relativ "seßhaft". Sie halten sich vorwiegend in den äußeren Rindenzonen und den Markzonen der Lymphknoten auf.

Bei den Vögeln übernimmt die Bursa fabricii für die Reifung der B-Lymphozyten die Rolle, die beim Menschen der Thymus für die T-Lymphozyten innehat. Man spricht daher beim Menschen vom Bursa-Äquivalent als primäres Immunorgan oder Reifungsorgan der B-Lymphozyten.

Die Zusammenhänge zwischen dem Thymussystem und dem Bursa-system sowie ihre synergistischen Wirkungen bei der Bekämpfung vieler Antigene sind kompliziert und nicht völlig geklärt. Welche lymphatischen Gewebe beim Menschen als Bursa-Äquivalent anzusehen sind, ist ebenso noch eine offene Frage. Es wird aber angenommen, daß das Knochenmark selbst das Bursa-Äquivalent darstellen könnte.

Die B-Lymphozyten stammen danach aus dem Knochenmark und sind immunologisch kompetent, so wie die T-Lymphozyten nach ihrer Reifung im Thymus. Die B-Lymphozyten sind in den Follikeln der Lymphknoten lokalisiert. Makrophagen des Retikuloendothelzytären Systems phagozytieren im Organismus befindliche Antigene. Sie bauen sie mit lysosomalen Enzymen ab. Die dabei entstehenden Produkte haben oft eine höhere spezifische Immunisierungswirksamkeit als die Ausgangsstoffe. Diese Produkte werden nun von den Makrophagen in den Lymphknoten den B-Lymphozyten gleichsam "vorgelegt" und regen sie so zur Differenzierung und Proliferation an. Diese Helferfunktion der Makrophagen ist noch nicht in allen Einzelheiten geklärt. Sicher spielen sie aber eine wichtige Rolle bei der Antigenpersistenz, indem sie quasi als Antigendepot dienen. Damit tragen sie zur langen Dauer vieler Immunreaktionen bei.

Nach der Stimulation durch Antigene oder deren Abbauprodukte transformieren sich die B-Lymphozyten in größere basophile B-Immunoblasten. Diese teilen sich weiter und differenzieren sich teils in Antikörnerproduzierende Plasmazellen, teils (wie auch die T-Lymphozyten sich in "effector- und memory-cells" teilen) in Gedächtniszellen. Diese Gedächtniszellen können beim erneuten Kontakt des Organismus mit dem gleichen Antigen eine sekundäre Immunantwort auslösen, die schneller und mit höherer Antikörperbildung einhergeht als die erste Reaktion. Da generell die Immunantworten des B-Zellsystems früher und schneller als die des T-Zellsystems einsetzen, bezeichnet man sie als Sofortreaktionen im Gegensatz zu den Spätreaktionen des T-Systems.

Die für die Antikörperproduktion verantwortlichen Plasmazellen haben im Gegensatz zu den Gedächtniszellen nur eine kurze Lebensdauer von etwa 4 - 5 Tagen. Nach einer Latenz von 2 Tagen produzieren sie besonders stark Immunglobuline.

Zunächst wird vor allem IgM synthetisiert, später wird es von IgG abgelöst. Diese Antikörper reagieren mit den spezifischen Antigenen. Dabei kann es neben phylakogenen Immunreaktionen auch zu pathogenen, allergischen Verläufen kommen, auf die später noch näher eingegangen wird.

Antigene, die vor allem B-Lymphozyten stimulieren und damit also eine Sofortreaktion auslösen, sind z.B. chemische Toxine, Drogen, Mukopolysaccharide, Nukleoproteine, artfremde Proteine, H-Antigene sowie Parasiten und Mikroorganismen und deren Toxine.

Nach der Antigenstimulation und während der Produktion der humoralen Antikörper bietet sich in den Lymphknoten in den unter dem Einfluß des B-Zellsystems stehenden äußeren Rindenzonen und den Markzonen folgendes Bild: Es entwickelt sich eine follikuläre lymphatische Hyperplasie durch die Entwicklung aktivierter Lymphfollikel sowie eine Plasmazytose der Markstränge. Die Plasmazellen sind großteils in den Lymphknoten "seßhaft", sie können sie aber auch in geringer Zahl verlassen und sich im Lymphsystem oder auch in nicht zum Lymphsystem gehörenden Organen ansiedeln.

Für die Einleitung einer Immunglobulinbildung durch die Plasmazellen ist allem Anschein nach bei vielen Antigenen eine Mitarbeit von T-Lymphozyten notwendig. So kann sich auch bei Störungen des T-Zellsystems eine Verschlechterung der humoralen Immunantwort ergeben. Für ein Zusammenwirken beider Systeme spricht auch, daß in vielen histologischen Untersuchungen von peripheren Immunorganen Mischtypen der immunologischen Reaktionsarten gefunden werden. Außerdem können bei allergischen Erkrankungen mehrere Grundtypen der pathogenen Immunreaktion (Soforttypen I - III durch humorale Vermittlung, Spättypen IV durch zelluläre Vermittlung) gleichzeitig vertreten sein. Es gibt also sicher Wechselwirkungen zwischen beiden Systemen sowie Mischformen der Immunität und der pathogenen Immunreaktionen, die durch Vielzahl und Vielfalt der Antigene gut erklärbar scheinen.

### 5.1.3. Antikörperklassen

Die von den Plasmazellen des B-Zellsystems synthetisierten Antikörper sind Glykoproteine, die elektrophoretisch der  $\gamma$ -Globulinfraktion des menschlichen Blutplasmas zugehören. Sie sind in Bezug auf ihre Eigenschaften sehr heterogen, besitzen aber trotzdem in ihrem strukturellen Aufbau viele gemeinsame charakteristische Merkmale. Bisher kennt man 5 Hauptklassen, die sich unter anderem in ihrem Molekulargewicht unterscheiden, nämlich die Klassen G, A, D, E und M (in der Reihenfolge nach steigendem Molekulargewicht).

Diese Antikörper haben die Fähigkeit, sich an die determinanten Gruppen der für sie spezifischen Antigene zu binden. Ihre Grundeinheit besteht aus je 2 "leichten" L (Light)-Ketten aus Polypeptiden mit je 220 Aminosäuren (Molekulargewicht etwa 20 000) und 2 "schweren" H (Heavy)-Polypeptidketten mit je 450 Aminosäuren (Molekulargewicht etwa 50 000). Gewisse Antikörper können aus mehreren solchen Grundeinheiten zusammen-

gesetzt sein, so besteht z.B. ein IgM-Molekül aus 5 sternförmig angeordneten Einheiten. Die schweren Ketten sind für die 5 Ig-Klassen jeweils spezifisch. So verfügt IgG über  $\gamma$ -, IgA über  $\alpha$ -, IgD über  $\delta$ -, IgE über  $\epsilon$ - und IgM über  $\mu$ -Ketten. Die leichten Ketten gehören entweder der  $\kappa$  (Kappa-) oder  $\lambda$  (Lambda-) Klasse an. So kann innerhalb der Ig-Hauptklassen jeweils in  $\kappa$ - und  $\lambda$ - Typen unterschieden werden. Die schweren und leichten Ketten sind in einer Grundeinheit jeweils durch eine Disulfidbrücke verbunden, in der Reihenfolge z.B. von rechts nach links gesehen leicht - schwer - schwer - leicht (siehe Abb. 12a). Diese Einheit besitzt zwei variable, für die Antigenbindung verantwortliche N-terminale Enden, sowie ein konstantes C-terminales Ende. Sie ist also bivalent, d.h. sie kann zwei antigene Determinanten binden. Die Spezifität der Antikörper beruht auf den unterschiedlichen Aminosäuresequenzen im variablen Bereich der schweren und leichten Ketten. Die invariablen Anteile, die sich immer am carboxyterminalen Ende befinden, werden für die Einteilung der Antikörperklassen herangezogen.

Die meisten Antikörper bestehen aus je einer Grundeinheit, sind also Monomere. IgA-Antikörper können aber Di- oder Trimere (2 - 3 Einheiten) sein, während IgM aus 5 Grundeinheiten zusammengesetzt ist.

Die Grundeinheiten aller Antikörperklassen können durch Papain und Pepsin in verschiedener Weise gespalten werden. Die besten Ergebnisse und die beste Differenzierung der Bruchstücke erhält man beim IgG.

Papain spaltet das IgG-Molekül in 3 Fragmente (siehe Abb. 12b). Davon besitzen die beiden Fab (antigen binding fragments)-Stücke die variablen Anteile der H- und L-Ketten und somit je eine Antigenbindungsstelle.

Das verbleibende FC-Fragment (complement binding fragment) besteht aus den Resten der beiden H-Ketten, die an ihrem C-terminalen Ende die Charakteristika für die Einteilung in die Antikörper-Hauptklassen tragen. Dieses C-terminale Ende ist für Bindung und Aktivierung von Komplement verantwortlich.

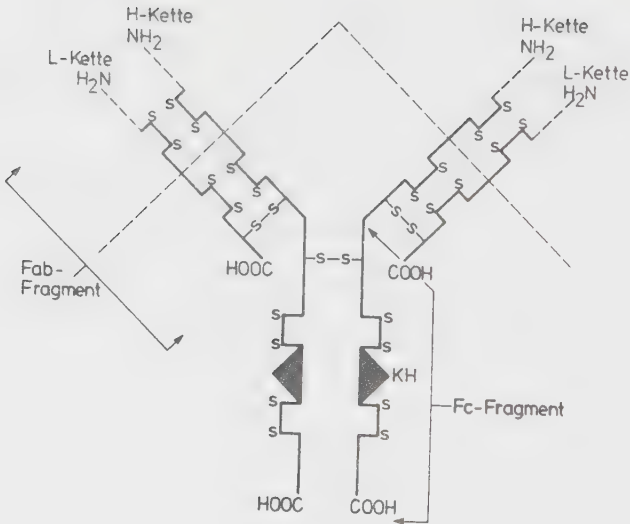


Abb. 12a: Schema eines bivalenten Antikörpers, z.B. eines IgG-Moleküls (modifiziert nach FRANK, Med. Mikrobiologie, 1979)

Oberhalb der gestrichelten Linien befinden sich die beiden aus H- und L-Kettenanteilen bestehenden variablen, N-terminalen Stücke des Moleküls. Diese sind für die Bindung des spezifischen Antigens zuständig.

Unterhalb der gestrichelten Linien ist der invariable carboxyl-terminale Anteil des Moleküls, das Fc-Fragment dargestellt. Es besteht zum größten Teil aus den beiden H-Ketten und dem Kohlehydratanteil des Antikörpers (KH) und bindet und aktiviert Komplement.

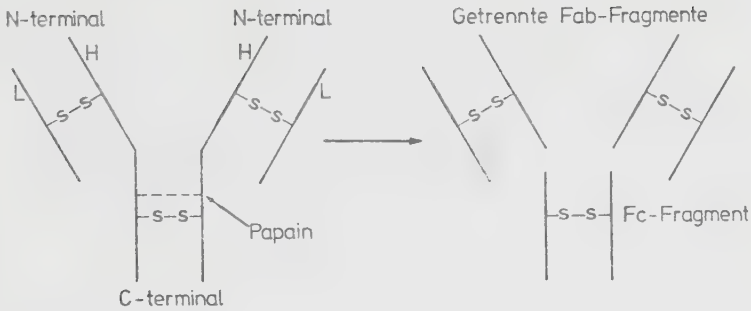


Abb. 12b: Spaltung eines IgG-Moleküls durch Papain

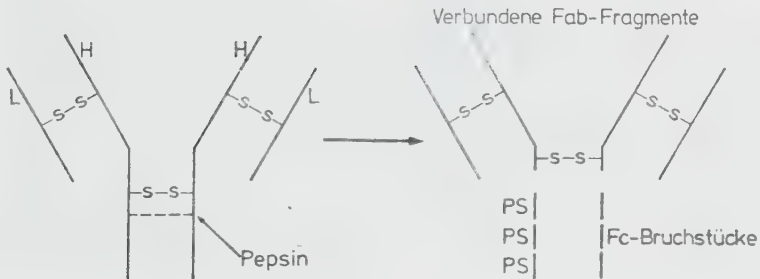


Abb. 12c: Spaltung eines IgG-Moleküls durch Pepsin

(beide modifiziert nach FRANK, Med. Mikrobiologie, 1979)

Die Kohlenhydrate der Antikörper sind an die H-Ketten gebunden, ihr prozentualer Anteil am Gesamtmolekül ist in den einzelnen Ig-Klassen verschieden (zwischen 2 - 12 %).

Bei der Spaltung mit Pepsin (Abb. 12c) wird das IgG-Molekül etwas weiter in Richtung auf das C-terminale Ende jenseits der Disulfidbrücke zwischen den beiden H-Ketten gespalten. Dadurch bleiben die beiden Fab-Stücke durch diese Brücke miteinander verbunden und haben etwas längere H-Ketten. Das Fc-Stück wird dabei jedoch in viele einzelne Peptide zerlegt und läßt sich nicht mehr nachweisen.

Den Antikörpern aller 5 Klassen ist die Fähigkeit mit Antigenen spezifisch zu reagieren gemeinsam. Dies ist ihre gemeinsame Aufgabe im menschlichen Organismus, die sie jedoch auf unterschiedliche Art und Weise erfüllen. So sind IgG-Antikörper z.B. wichtige Antitoxine, die etwa bakterielle Toxine neutralisieren. Sie kommen in hoher Konzentration sowohl im Serum als auch im Gewebe vor. Bei den oben besprochenen Immunreaktionen des B-Zellsystems werden sie, nachdem etwa 2 - 4 Wochen lang nach der Antigenexposition IgM-Antikörper wirkten, aktiv. Auch bei einer Sekundärreaktion, also bei einem zweiten Kontakt eines Organismus mit einem Antigen werden sie bevorzugt nachgewiesen. Hier treten sie dann allerdings sehr viel früher auf, nicht als "Spätantikörper" wie bei der Primärreaktion.

IgG-Antikörper sind plazentagängig, die Mutter versorgt also ihr Kind durch einen gewissen übertragenen Antikörperpool mit einem Impfschutz, bis das Immunsystem des Säuglings funktionstüchtig wird.

IgA-Antikörper üben auf den Schleimhäuten des Respirations- und des Gastrointestinaltraktes wichtige Schutzfunktionen aus, außerdem kommen sie im Serum vor und werden auch von exokrinen Drüsen, wie z.B. auch dem Pankreas, sezerniert. IgM-Antikörper treten vor allem im Serum auf; sie richten sich hauptsächlich gegen gram-negative, bakterielle Erreger. Bei humoralen Immunreaktionen stellen sie nach etwa 7 Tagen die sogenannten Frühantikörper, die ersten spezifisch gegen das betreffende Antigen gerichteten Antikörper.

IgD-Antikörper werden vorzugsweise von Plasmazellen in den Schleimhäuten des Respirations- und des Gastrointestinaltraktes gebildet. Sie können sich mit ihrem Fc-Teil an Mastzellen binden. Wird an ihre freien Fab-Stücke das spezifische Antigen angelagert, so werden Histamin und andere gefäßaktive biogene Amine aus den Mastzellen freigesetzt. Es resultiert eine allergische Reaktion am Ort der Antigeneinwirkung. Die Funktion der IgD-Antikörper ist noch größtenteils ungeklärt.

#### 5.1.4. Das Komplementsystem

Nach der Definition der WHO ist das Komplementsystem "ein System von Faktoren im normalen Serum, das durch Immunkomplexe aktiviert wird, um biologisch wichtige Funktionen zu vermitteln."

Eine dieser "biologisch wichtigen Funktionen" und die charakteristische Aufgabe dieses Systems schlechthin ist die Zell-Lyse, daneben bewirkt es z.B. noch die Freisetzung vasoaktiver, biogener Amine, Opsonierung, Chemotaxis, Freisetzung phagozytosesteigernder Faktoren und anderes. Diese Effekte können phylakogen sein, aber auch schädigende Wirkung auf den Organismus haben. So weisen z.B. R. SEELIG und H.P. SEELIG (1975) auf die mögliche Rolle von Komplement als Auslöser einer akuten Pankreatitis nach einem initialen Gefäß- oder Membranschaden hin.

Das Komplementsystem besteht aus einer Gruppe von mindestens 9 immunochemisch verschiedenen, der Globulinfraction zugehörigen Serumfaktoren. Diese werden mit C 1 - C 9 bezeichnet. Sie bestehen aus verhältnismäßig großen Eiweißmolekülen mit Molekulargewichten zwischen 79 000 und 400 000.

Aktiviert wird das Komplementsystem über eine Enzymkaskade, ähnlich dem Gerinnungssystem. Dazu muß erst eine Antigen-Antikörper-Bindung stattgefunden haben, also ein Immunkomplex vorliegen, der als Auslöser für die Komplementaktivierung

angesehen wird. Angeworfen wird die Reaktion über das Fc-Fragment des Antikörpers, also den invariablen Anteil der 2 H-Ketten. Sie kann allerdings nur starten, wenn sich mindestens 2 Fc-Fragmente angenähert haben. Ein einziger mit einem Antigen verbundener IgM-Antikörper, der ja ein Pentamer ist und also über 5 Fc-Fragmente verfügt, genügt schon zur Komplementaktivierung. Dagegen müssen mindestens 2 monomere IgG-Antikörper zusammenwirken, um eine Reaktion des Komplement auszulösen.

Die normale Reaktionsfolge startet z.B. bei einem IgG-Immunkomplex (Antigen + Antikörper) mit einer Anlagerung von C 1 q an das Fc-Fragment des Antikörpers. Dieser Weg ist nur bei IgM und IgG möglich, andere Immunglobuline können Komplement nur über den sogenannten "Alternative Pathway" aktivieren. Über diesen Weg können auch andere Stoffe wie z.B. Endotoxine gramnegativer Bakterien, proteolytische Enzyme, Inulin und andere Polysaccharide oder auto- und isologe Erythrozytenmembranen das Komplementsystem anwerfen. So schreiben R. SEELIG und H.P. SEELIG (1975), daß das Komplementsystem aufgrund der möglichen Aktivierung durch die genannten Substanzen "eine wichtige Rolle bei jeder Entzündungsreaktion spielt und nicht länger ausschließlich in Verbindung mit immunologischen Reaktionen gesehen werden kann."

Bei diesen "Alternative Pathway"-Reaktionen beginnt die Komplementwirkung mit einer Aktivierung bei Faktor C 3, z.B. durch Properdin.

In Bezug auf das Pankreas ist es wichtig zu wissen, daß auch Trypsin und Plasmin C 1 s, C 3 und C 5 aktivieren können. Hierzu ist ebenfalls das Vorliegen eines Immunkomplexes nicht notwendig.

Die Hauptaufgabe des Komplementsystems ist die Zell-Lyse. Durch seine verschiedenen Faktoren kann es jedoch auch opsonierend wirken, d.h. Immunkomplexe so verändern bzw. markieren, daß sie von Makrophagen schneller phagozytiert werden. Weiterhin setzt es Spaltprodukte frei, die auf eosinophile und neutrophile Leukozyten, sowie auf Makrophagen chemotaktische Wirkung haben.

Auch gegen Viren ist Komplement wirksam. Es steigert die virusmembranschädigende Wirkung von IgG. Komplement haftet an den Viren und führt zu deren Verklumpung und somit zu einer Herabsetzung ihrer pathogenen Wirkung.

Komplement ist auch befähigt, Entzündungsmediatoren zu bilden. Die Spaltpeptide C 5 a und C 3 a können aus Mastzellen Histamin freisetzen und dadurch allergische Entzündungsreaktionen hervorrufen.

#### 5.1.5. Antigene

Als Antigene werden im weitesten Sinne Stoffe bezeichnet, die eine spezifische Immunantwort hervorrufen und sich an spezifischen Immunreaktionen beteiligen können. Substanzen, die von sich aus ohne Bindung an irgendwelche Trägerstoffe dazu fähig sind, bezeichnet man als Vollantigene oder auch als Immunogene.

Häufig jedoch gibt es unvollständige Antigene, die zwar mit bereits vorhandenen spezifischen Antikörpern reagieren können, aber nicht in der Lage sind, eine Antikörperproduktion zu induzieren. Solche Stoffe bezeichnet man als Haptene. Erst nach Kopplung an ein Trägermolekül (z.B. ein Zucker oder ein Eiweiß) entsteht ein Vollantigen, erst dann erreichen die Haptene Immunogenität und können damit die Produktion von Antikörpern oder zelluläre Immunitätsreaktionen auslösen.

Die Spezifität eines Antigens wird durch verhältnismäßig kleine chemische Strukturen seiner determinanten Gruppe bestimmt. Zu dieser determinanten Gruppe paßt der zu ihr spezifisch synthetisierte Antikörper wie "ein Schlüssel zum Schloß."

Es ist möglich, daß ein Antigen mehrere determinante Gruppen trägt. So kann es mit mehreren unterschiedlichen Antikörpern reagieren. Treten auf verschiedenen Antigenen ähnliche oder gleiche Determinanten auf, so kann es zu immunologischen Kreuzreaktionen kommen.

Die Determinanten werden in ihrer Spezifität oft von einzelnen chemischen Substituenten bestimmt. Andere spezifische Antikörper können im Experiment schon hervorgerufen werden, wenn man unbedeutende Substituenten mit sterischer Verschiedenheit in die determinante Gruppe des Antigens einbringt. Der Antikörper reagiert also nicht mit dem gesamten Antigen, sondern jeweils nur mit dieser Determinanten. Diese muß aber an das Trägermolekül Antigen gekoppelt sein, sonst könnte sie keine immunogene Wirkung hervorrufen.

Ähnlich kann man sich auch das Wirken der Haptene vorstellen. Auch sie müssen, um Immunogenität zu erreichen, an einen Träger gekoppelt sein. Haptene können eine große Zahl von Substanzen sein: so z.B. Medikamente, Prostaglandine, Steroide, Peptidhormone und andere.

Die Spezifität des Antigens hängt also von seiner determinanten Gruppe ab. Dagegen wird seine Immunogenität zusätzlich durch verschiedene ineinandergreifende Faktoren bestimmt. Dazu zählen etwa das Molekulargewicht, die Oberflächenstruktur, der Aggregatzustand, die Größe, die Form und die Zusammensetzung des Antigens. Natürlich spielt auch der Wirtsorganismus selbst, in dem die Immunreaktion stattfindet, z.B. mit seinen genetischen Faktoren und seinen für ihn spezifischen Reaktionsweisen eine wichtige Rolle für die Immunogenität eines Antigens. Auch die Art und Weise, auf die einem Wirtsorganismus ein Antigen appliziert wird, ist dabei von Bedeutung.

Um immunogen zu sein, müssen Substanzen aber ein Molekulargewicht von mindestens 5000 haben. Die meisten Antigene haben Proteincharakter (Reine Proteine, Lipoproteine, Glykoproteine). Artfremdes Eiweiß ist im allgemeinen stark immunogen. Auch Polysaccharide und Lipopolysaccharide können immunogen wirken, wenn sie an Eiweiß gekoppelt sind. Sie tragen dann stark zur Spezifität eines Antigens bei.

Auch Nukleinsäuren können, vor allem an Eiweiß gebunden, durchaus immunogen wirken. Der Lupus Erythematodes sei hier ein Beispiel dafür, wie eigene Nukleinsäuren in einem Orga-

nismus immunogene Wirkung haben können. Auf die Bedeutung von Autoantigenen für die Entstehung anderer Autoimmunerkrankungen wird in einem späteren Abschnitt gesondert eingegangen.

#### 5.1.6. Histokompatibilitätsantigene, Transplantationsimmunität

Jeder Organismus hat in allen seinen Zellen und Geweben eine für ihn spezifische, genetisch festgelegte Antigenzusammensetzung. Diese Antigene nennt man Transplantations- oder Histokompatibilitätsantigene. Der Organismus erwirbt gegen diese Antigene eine Toleranz, von anderen Organismen werden sie jedoch als "fremd" empfunden. Daher hat z.B. das Transplantieren von fremden Organen oder Zellen eine immunologische Abwehrreaktion zur Folge. Diese Reaktion hängt in ihrer Stärke und Schnelligkeit von der genetischen Beziehung zwischen Empfänger und Spender ab. Sie kann zur Transplantatabstoßung führen.

Die für Abstoßungs- und Unverträglichkeitsreaktionen verantwortlichen Histokompatibilitätsantigene sind in die äußere Zellmembran und eventuell auch in das endoplasmatische Retikulum integrierte Lipoproteine. Sie sind für ein bestimmtes Individuum spezifisch, aber organspezifisch. Allerdings kommen sie in den einzelnen Organen in unterschiedlicher Quantität vor. Den größten relativen Antigenanteil haben lymphoide Zellen. Herz-, Muskel- und Hirngewebe weisen weniger Antigene auf. So treten Reaktionen bei Transplantationen verschiedener Gewebe unterschiedlich stark und schnell ein. Hauttransplantate werden z.B. schneller als Nieren abgestoßen.

Für die Erforschung der genetischen Grundlagen und auch für die medizinische Diagnostik sind besonders die auf menschlichen Leukozyten nachweisbaren Histokompatibilitätsantigene

wichtig (HLA-System - Human Leucocyte Antigen). Dieses HLA-System besitzt einen starken Polymorphismus, so daß sehr selten nicht verwandte Menschen den gleichen HLA-Typus haben.

Die Transplantationsimmunität und somit die Transplantatabstoßung beruhen in erster Linie auf einer Aktivität von T-Lymphozyten gegen das fremde Gewebe, also auf einer zellulären Spättyp-Immunreaktion. Der Reaktionsmechanismus ist oben bereits besprochen worden. Es handelt sich um eine Hypersensitivitätsreaktion vom verzögerten Typ. Die wichtige Rolle der zellgebundenen Immunitätsreaktionen bei der Transplantatabstoßung wird dadurch unterstrichen, daß Transplantationsimmunität sich nur durch spezifisch sensibilisierte Lymphozyten des Empfängers auf andere Organismen übertragen läßt, nicht jedoch durch zellfreies Serum.

Es gibt aber wahrscheinlich auch humorale Antikörper, die eventuell bei Transplantatabstoßungen mitwirken können. So können Transplantate z.B. akut durch gegen HLA-Antigene gerichtete Antikörper abgestoßen werden, die der Empfängerorganismus schon vor der Transplantation z.B. auf den immunogenen Reiz einer Bluttransfusion hin gebildet hatte.

Im Allgemeinen sind Abstoßungsreaktionen des Empfängers gegen Spendergewebe (Host versus graft-Reaktion) jedoch auf zelluläre Immunreaktionen zurückzuführen. Auch umgekehrte Reaktionen, also Abstoßungsreaktionen des Transplantats gegen den Empfängerorganismus (Graft versus Host-Reaktion) sind denkbar, insbesondere bei Empfängern mit schwacher Abwehrlage. Besonders bei Knochenmarktransplantationen hat dies Bedeutung, hierbei gelangen viele immunkompetente Lymphozyten des Spenders in den Empfängerorganismus, die dort immunologisch aggressiv werden und eine Sekundärerkrankung auslösen können.

Die Stärke und Schnelligkeit der Transplantatabstoßung ist natürlich auch davon abhängig, ob es sich um einen ersten Kontakt von Spendermaterial mit dem Empfänger handelt (first-set-reaction), oder ob der Empfänger bereits bei einer früheren Transplantation (oder z.B. auch nur Transfusion, denn

Histokompatibilitätsantigene sind ja nicht organspezifisch) gegen Histokompatibilitätsantigene sensibilisiert worden war. In diesem Fall wird natürlich die sogenannte second-set-reaction wesentlich schneller und intensiver ablaufen, nach den in 4.1.1. geschilderten Mechanismen einer Sekundärreaktion.

#### 5.1.7. Pathogene Immunreaktionen, die vier Grundtypen

Oben ist bereits erwähnt worden, daß Immunreaktionen nicht immer phylakogene, also schutzbringende Wirkungen haben müssen, sondern durchaus auch durch Entstehung einer Hypersensitivität, also einer Allergie den Organismus schädigen können.

Der Körper erreicht dabei gegen bestimmte antigene Substanzen keine Immunität, vielmehr führen die gleichen molekularen und zellulären Vorgänge zu krankmachenden Immunreaktionen. Art und Ausmaß der Schädigungen des Organismus hängen dabei wesentlich von den Eigenschaften der Allergene sowie vom Typ der Immunreaktion ab. Natürlich spielen auch die Stelle des Körpers, wo das Antigen mit immunkompetenten Zellen reagiert, und wo folglich die Immunantwort stattfindet, sowie die Art der Mediatoren (z.B. Histamin, vasoaktive Amine), die durch die Reaktionen freierwerden, wichtige Rollen.

Grundsätzlich hat der Organismus also auf antigene Reize zwei Antwortmöglichkeiten: Entwicklung einer schutzbringenden Immunität oder Entstehung einer Allergie mit schädigenden Folgen. Obwohl es eine Vielzahl krankheitserregender Immunphänomene gibt, die den gleichen Richtlinien folgen wie die eine Immunität erzeugenden Reaktionen, haben sich doch 4 verschiedene Grundtypen (Typ I - IV) von pathogenen Immunreaktionen herauskristallisiert, die den allergischen Krankheiten des Menschen zugrunde liegen. Diese Grundtypen können auch in unterschiedlicher Weise miteinander kombiniert auftreten. So können sich viele klinisch sehr differente Erscheinungsbilder von allergischen Erkrankungen ergeben.

Die Reaktionen I, II und III kommen durch Immunantworten des B-Zellsystems zustande, sie werden also durch humorale Antikörper vermittelt und sind somit vom Soforttyp.

Als einzige der pathogenen Immunreaktionen ist Typ IV vom Spättyp, sie wird also vom T-Zellsystem hervorgerufen und durch zellgebundene Immunphänomene bedingt.

Der Grundtyp I (Reagintyp), die Anaphylaxie:

Die anaphylaktische Sofortreaktion wird durch nicht komplementbindende zytotrope IgE-Antikörper vermittelt. Genetisch disponierte Personen können diese Antikörper gegen alltägliche Substanzen wie Hausstaub, Pollen, Nahrungsmittel, Medikamente, Tierhaare und -epithelien und vieles andere mehr bilden. Nach der ersten Sensibilisierung kann es beim zweiten Kontakt mit dem gleichen Antigen zu anaphylaktischen Sofortreaktionen kommen. Die Symptome können lokal begrenzt sein (z.B. Bronchiolenkonstriktion und Rhinitis allergica nach Einatmen von Blütenstaub) oder zu schweren Allgemeinerscheinungen bis hin zum anaphylaktischen Schock führen.

Der Mechanismus der anaphylaktischen Sofortreaktion ist folgender: Zytotrope IgE-Antikörper lagern sich bevorzugt an Gewebsmastzellen an. Nach einer vorausgegangenen Sensibilisierung sind bei einem zweiten Antigenkontakt Antikörper in großer Menge vorhanden, die einerseits an der Oberfläche der Mastzellen sitzen, andererseits die zugeführten Antigene an sich binden. Dadurch kommt es zu einer Kettenreaktion, in deren Verlauf aus den Mastzellen Histamin und andere vasoaktive Amine, sowie andere Stoffe wie "slow reacting substances" und Bradykinine freigesetzt werden. Diese führen an der Stelle der Antigenbindung zu Dilatation und Permeabilitätssteigerung kleiner Blutgefäße (z.B. Quaddeln durch Ödembildung bei Reaktionen in der Haut) sowie zu einer Kontraktion von glatter Muskulatur (z.B. Konstriktion der Bronchien beim "Heufieber" oder allergischen Asthma bronchiale). Die Auswirkungen der freigesetzten Mediatoren bedingen also die klinischen Krankheitsbilder.

Es wurde schon gesagt, daß die Symptome dieser allergischen Reaktionen lokal begrenzt oder generalisiert auftreten können. Dies hängt davon ab, ob die freiwerdenden Mediatoren lokal oder systemisch wirken. So kann sich neben den lokalen Erscheinungen wie Heuschnupfen eine generalisierte Kreislaufstörung entwickeln und in seltenen Fällen zu einem tödlichen anaphylaktischen Schock führen. Sicher ist dabei auch die Menge des zugeführten Antigens von Bedeutung. So kann ein gut sensibilisierter Organismus bei Kontakt mit hohen Antigendosen in einen anaphylaktischen, hypovolämischen Kreislaufschock kommen. Die Menge der freigesetzten biogenen Amine bewirken dabei generalisiert eine starke Erhöhung der Gefäßpermeabilität. Dadurch kommt es zu Ödemen in der Peripherie, zu starkem Plasmaverlust in den Extravasalraum, dadurch zu Hypovolämie und letztendlich zum Herz-Kreislaufversagen.

Die Bereitschaft, auf die genannten Allergene mit Immunphänomenen des Grundtyps I zu reagieren, tritt beim Menschen familiär gehäuft auf. Man bezeichnet sie als Atopie. Sicherlich sind bei den entstehenden Krankheitsbildern auch psychogene Faktoren zu beachten.

Der Grundtyp II, der zytotoxische Reaktionstyp:

Diese Allergie wird von IgG- und IgM-Antikörpern ausgelöst, die sich an antigene Gruppen in Zell- oder Basalmembranen binden oder mit Antigenen reagieren, die in enger Nachbarschaft zu Membranen stehen. Die Reaktion kann ohne, vor allem aber mit Komplementbeteiligung zu einem direkten Zell- oder Gewebsschaden führen. Hauptsächlich beruht die Schädigung also auf Aktivierung von Komplement und nachfolgender Zytolyse. Andererseits können Strukturen auch indirekt, durch von den IgG-Antikörpern hervorgerufene Induktion einer gesteigerten Phagozytosefähigkeit, durch Makrophagen geschädigt werden.

Solche zytotoxischen Immunreaktionen kennt man z.B. bei Transfusionszwischenfällen oder bei einer Rhesusinkompatibilität, wobei körperfremde Zellen in den Organismus gelangen. Auch der Anti-Basalmembrantyp der Glomerulonephritis gehört

hierher, dabei reagieren komplementbindende IgG-Antikörper mit der glomerulären Basalmembran.

Auch bei anderen Autoimmunerkrankungen spielt dieser pathogene Reaktionstyp eine Rolle. So findet man zytotoxische Antikörper z.B. gegen Thyreoglobulin bei der Hashimoto-Thyreoiditis; oder Autoantikörper gegen Erythrozyten bei autoimmunhämolytischen Anämien. Blutzellen können auch zugrunde gehen, wenn gegen an sie angelagerte Medikamente oder andere Substanzen Antikörper gebildet werden und diese zytotoxische Reaktionen hervorrufen.

### Grundtyp III - Immunkomplexreaktion:

Diese Reaktion wird durch Antigen-Antikörperkomplexe ausgelöst, die sich, wenn sie nicht durch Phagozytose eliminiert werden, an bestimmten Stellen im Organismus ablagern, nämlich vor allem an den Wänden kleiner Blutgefäße in den Nieren, in den Gelenken und in der Haut. Diese Immunkomplexe bestehen aus löslichen Antigenen und komplementbindenden präzipitierenden IgG- und IgM-Antikörpern.

Durch Komplementaktivierung und Freisetzung zellulärer und humoraler Mediatoren (Anaphylatoxin, Histamin) werden Entzündungsreaktionen und Gewebsschädigungen an der Stelle der Ablagerung hervorgerufen. Es kommt durch chemotaxische Wirkung zur Anziehung von Granulozyten. Die Immunpräzipitate werden von den Granulozyten phagozytiert und führen zur Zerstörung dieser phagozytierenden Zellen. Aus den zerfallenden Granulozyten werden dabei lysosomale Enzyme freigesetzt. Diese sind als die heftigsten Entzündungsmediatoren anzusehen. Sie können die Endothelien der betroffenen Blutgefäße bis auf die Basalmembran herab zerstören, so daß sich an der dann freiliegenden Basalmembran Thrombozytenaggregate bilden können. Weiterhin kann es zur Bildung von Fibrin und Mikrothromben kommen, fibrinoide Gefäßwandnekrosen können entstehen. Es herrscht also das Bild einer akuten entzündlichen Reaktion mit Thrombosen kleiner Blutgefäße und ausgeprägten Ödemen. Die Entzündung kann leicht serös bis schwer nekrotisierend sein. Auch beim Grundtyp III sind also ähnlich wie

bei der Anaphylaxie nicht die spezifischen Antigen-Antikörperkomplexe selbst die Ursache der krankheitserregenden Auswirkungen, sondern die durch die Freisetzung der genannten Mediatoren hervorgerufenen unspezifischen Folgereaktionen.

Diese gewebsschädigenden Reaktionen können lokal begrenzt z.B. in der Haut an der Applikationsstelle des Antigens (etwa artfremdes Serum) auftreten (Arthus-Phänomen) oder auch zu generalisierten Krankheitserscheinungen (z.B. Serum-Krankheit) führen.

Die lokale Reaktion, also z.B. das Arthusphänomen, läuft ab, wenn in einem vorher sensibilisierten Organismus das Antigen in kleiner Menge z.B. subcutan appliziert wird. Durch das Vorliegen hoher Antikörpertiter und die geringe Antigenmenge können Immunpräzipitate entstehen, die sich in den Gefäßen am Ort der Applikation ablagern. Dort rufen sie dann lokal die beschriebene Reaktion hervor, die sich nach außen als Rötung und entzündliche Schwellung darstellt. Generalisiert mit Symptomen wie Schüttelfrost, Fieber, Gelenkschmerzen und allgemeiner Abgeschlagenheit tritt die Reaktion dagegen auf, wenn etwa in einen noch nicht sensibilisierten Organismus hohe Antigentiter, etwa in Form von artfremden Serum injiziert werden. Zunächst werden viele der zugeführten Antigene vom RNS ausgeschaltet, oder sie verteilen sich in die Extravasalräume. So kommt es zu einem Abfall der Antigenmenge. Die in der Zirkulation verbleibenden Antigene verbinden sich jedoch mit den nach 5 - 7 Tagen auftretenden spezifischen Antikörpern zu löslichen Immunkomplexen. Diese zirkulieren und werden in der Wandung kleiner Gefäße der Nieren, der Haut und der Gelenke abgelagert. Dort rufen sie die oben beschriebenen Reaktionen hervor und führen damit zu den geschilderten Symptomen der akuten Serumkrankheit. Durch dauernde Zufuhr eines heterologen Serums kann diese Serumkrankheit chronisch werden. Sie hält solange an, wie ein leichter Antigenüberschuß besteht.

Zu den Krankheiten, die durch den Grundtyp III der Überempfindlichkeitsreaktion entstehen, zählt z.B. die Poststrepto-

der Leibessubstanzen der  $\beta$ -Hämolysierenden Streptokokken als Antigen wirksam werden. Dagegen gebildete Antikörper im Blut etwa 5 - 15 Tage nach einer Streptokokkeninfektion einer Tonsillitis, solange ein Antikörper mit den Antigenen Immunkomplexe, die sich in den Glomerula abgelagert werden. Die Nephritis entsteht dann durch die beschriebenen Vorgänge. Auch bei den Gefäß- und Gewebsschädigungen im Verlauf von Lupus Erythematoses, Panarteriitis nodosa und allergischen Vaskulitiden, sowie bei allergischen Alveolitiden im Rahmen der Lungen- oder Herz-Kreislauferkrankung sind Immunkomplexreaktionen beteiligt.

Grundtyp IV, verzögerter Reaktionstyp, Überempfindlichkeit vom Spättyp.

Immunphänomene dieser Art beruhen im Gegensatz zu den bisher aufgeführten ersten drei Typen nicht auf Reaktionen des humoralen B-Zellsystems (Sofortreaktionen), sondern sie werden durch das zelluläre T-System hervorgerufen (Spätreaktion). Sie sind also an das Vorhandensein spezifisch sensibilisierter T-Lymphozyten gebunden.

Das klassische Beispiel für eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp ist die Tuberkulinreaktion. Wird einem tuberkulös infizierten, also sensibilisierten Meerschweinchen Tuberkulin intracutan injiziert, so kommt es am Ort der Applikation zu einer Rötung, Schwellung und zu knötchenförmigen Verhärtungen. Diese Erscheinungen erreichen ihr Maximum erst nach 24 - 48 Stunden (Reaktion vom Spättyp).

Mikroskopisch findet man dabei vor allem perivaskulär betonte Zellinfiltrationen aus Makrophagen und Lymphozyten. Eine granulozytäre Reaktion ist nur vorübergehend. Neben ödematösen Schwellungen können auch Gewebssnekrosen auftreten. Die sich am Reaktionsort befindlichen mononukleären Zellen (Makrophagen und Lymphozyten) sind großteils von spezifisch sensibilisierten Lymphozyten angelockte unspezifische Mediatorzellen. Die Gewebsschädigungen entstehen durch lösliche Substanzen, die aus den beteiligten mononukleären Zellen

bei der Anaphylaxie nicht die spezifischen Antigen-Antikörperkomplexe selbst die Ursache der krankheitserregenden Auswirkungen, sondern die durch die Freisetzung der genannten Mediatoren hervorgerufenen unspezifischen Folgereaktionen.

Diese gewebsschädigenden Reaktionen können lokal begrenzt z.B. in der Haut an der Applikationsstelle des Antigens (etwa artfremdes Serum) auftreten (Arthus-Phänomen) oder auch zu generalisierten Krankheitserscheinungen (z.B. Serum-Krankheit) führen.

Die lokale Reaktion, also z.B. das Arthusphänomen, läuft ab, wenn in einem vorher sensibilisierten Organismus das Antigen in kleiner Menge z.B. subcutan appliziert wird. Durch das Vorliegen hoher Antikörpertiter und die geringe Antigenmenge können Immunpräzipitate entstehen, die sich in den Gefäßen am Ort der Applikation ablagern. Dort rufen sie dann lokal die beschriebene Reaktion hervor, die sich nach außen als Rötung und entzündliche Schwellung darstellt. Generalisiert mit Symptomen wie Schüttelfrost, Fieber, Gelenkschmerzen und allgemeiner Abgeschlagenheit tritt die Reaktion dagegen auf, wenn etwa in einen noch nicht sensibilisierten Organismus hohe Antigentiter, etwa in Form von artfremden Serum injiziert werden. Zunächst werden viele der zugeführten Antigene vom RHS ausgeschaltet, oder sie verteilen sich in die Extravasalräume. So kommt es zu einem Abfall der Antigenmenge. Die in der Zirkulation verbleibenden Antigene verbinden sich jedoch mit den nach 5 - 7 Tagen auftretenden spezifischen Antikörpern zu löslichen Immunkomplexen. Diese zirkulieren und werden in der Wandung kleiner Gefäße der Nieren, der Haut und der Gelenke abgelagert. Dort rufen sie die oben beschriebenen Reaktionen hervor und führen damit zu den geschilderten Symptomen der akuten Serumkrankheit. Durch dauernde Zufuhr eines heterologen Serums kann diese Serumkrankheit chronisch werden. Sie hält solange an, wie ein leichter Antigenüberschuß besteht.

Zu den Krankheiten, die durch den Grundtyp III der Überempfindlichkeitsreaktion entstehen, zählt z.B. die Poststrepto-

Neutrophilie, bei der Leibessubstanzen der  $\beta$ -hämolyysierenden Streptokokken als Antigen wirksam werden. Dagegen gebildete Antikörper bilden etwa 5 - 15 Tage nach einer Streptokokkeninfektion, etwa einer Tonsillitis, solange ein Antigenüberdruck besteht, mit den Antigenen Immunkomplexe, die über Basalmembran der Glomerula abgelagert werden. Die Nephritis entsteht dann durch die beschriebenen Vorgänge. Auch bei den Gefäß- und Gewebsschädigungen im Verlauf von Lupus Erythematodes, Panarteriitis nodosa und allergischen Vaskulitiden, sowie bei allergischen Alveolitiden im Rahmen der Lungen- oder Vogelzüchterlungen sind Immunkomplexreaktionen beteiligt.

Grundtyp IV, verzögerter Reaktionstyp, Überempfindlichkeit vom Spättyp.

Immunphänomene dieser Art beruhen im Gegensatz zu den bisher aufgeführten ersten drei Typen nicht auf Reaktionen des humoralen B-Zellsystems (Sofortreaktionen), sondern sie werden durch das zelluläre T-System hervorgerufen (Spätreaktion). Sie sind also an das Vorhandensein spezifisch sensibilisierter T-Lymphozyten gebunden.

Das klassische Beispiel für eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp ist die Tuberkulinreaktion. Wird einem tuberkulös infizierten, also sensibilisierten Meerschweinchen Tuberkulin intracutan injiziert, so kommt es am Ort der Applikation zu einer Rötung, Schwellung und zu knötchenförmigen Verhärtungen. Diese Erscheinungen erreichen ihr Maximum erst nach 24 - 48 Stunden (Reaktion vom Spättyp).

Mikroskopisch findet man dabei vor allem perivaskulär betonte Zellinfiltrationen aus Makrophagen und Lymphozyten. Eine granulozytäre Reaktion ist nur vorübergehend. Neben ödematösen Schwellungen können auch Gewebnekrosen auftreten. Die sich am Reaktionsort befindlichen mononukleären Zellen (Makrophagen und Lymphozyten) sind größtenteils von spezifisch sensibilisierten Lymphozyten angelockte unspezifische Mediatorzellen. Die Gewebsschädigungen entstehen durch lösliche Substanzen, die aus den beteiligten mononukleären Zellen

freigesetzt werden. (Lymphotoxin aus Lymphozyten, hydrolytische Enzyme aus den Makrophagen).

Auch bei der Kontaktdermatitis, also der allergischen Hautreaktion auf Stoffe wie Metalle, Farbstoffe, Dinitrochlorbenzol und andere, die sich als Haptene mit Proteinen der Haut zu Vollantigenen verbinden können, liegen Immunphänomene dieser Art zugrunde.

Ähnliche Reaktionen der Haut sind bei vielen anderen Antigenen (z.B. Bakterien-, Pilz-, Protozoen- und Virus-Antigene) bekannt. Sie werden zur klinischen Diagnostik herangezogen. Man nimmt an, daß zellgebundene Immunmechanismen auch bei der Manifestation von chronischen Infektionskrankheiten (Tuberkulose, granulomatöse Form der Lepra) beteiligt sind.

Ferner rufen sie die Transplantatabstoßung hervor, auch bei der Pathogenese von Autoimmunkrankheiten (z.B. Thyreoiditis) können sie, wie es bei der Besprechung dieser Erkrankungen noch erwähnt wird, beteiligt sein.

#### 5.1.8. Immuntoleranz, Autoimmunisierung, Autoantigene, Autoaggressionskrankheiten

Der Organismus toleriert normalerweise alle körpereigenen Substanzen das ganze Leben hindurch, auch wenn sie Antigencharakter besitzen, d.h. es finden keine Immunreaktionen gegen sie statt, das "Selbst" wird erkannt. Diesen Zustand bezeichnet man als natürliche Immuntoleranz oder Autotoleranz.

Nach BURNET's "clonal selection theory" (1959) werden immunkompetente Lymphozyten, die auf körpereigene (autologe) Antigene spezifisch reagieren können, während der Embryonalzeit ausgeschaltet. Möglicherweise geschieht dies mit den T-Lymphozyten in ihrem Reifungsorgan Thymus, spezifisch gegen Autoantigene reagiblen B-Lymphozyten müßten im Knochenmark oder in den bursa-äquivalenten Organen eliminiert werden.

Die Vorstellungen gehen dahin, daß T-Lymphozyten, die ja aus hämatopoetischen Stammzellen entstehen, während ihrer immunologischen Reifung im Thymus gleichsam getestet werden, ob sie gegen körpereigene Substanzen reagieren könnten. Solche autoreaktiven Zellen würden dann im Thymus eliminiert, während die übrigen nicht autoreaktiven immunkompetenten Lymphozyten ihren oben beschriebenen Reifungsprozeß fortsetzen könnten. Ähnliche Auslesungsvorgänge müßten auch die B-Lymphozyten in den entsprechenden Organen mitmachen.

Thymus und Bursaäquivalent werden also bei der Entstehung der Autotoleranz während der Ontogenese wichtige Rollen zuteil.

Nachdem früher PAUL EHRLICH seinen Begriff vom "Horror autotoxicus" (1897) prägte und aufgrund seiner Experimente glaubte, eine Möglichkeit zur Immunisierung gegen körpereigene Substanzen verneinen zu können, wurde dieses Schlagwort und die mit ihm verbundene Aussage in den letzten 30 - 40 Jahren mehr und mehr kritisiert und in Abrede gestellt.

So unterbleibt z.B. von vorneherein die Entwicklung von Autotoleranz gegen einige körpereigene Strukturen, entweder weil sie so vom übrigen Organismus abgetrennt sind, daß sie von immunkompetenten Zellen nicht erreicht werden können (so z.B. das Myelin der Nervenscheiden oder die vordere Augenkammer), oder weil sie erst nach Abschluß der natürlichen Toleranzentwicklung entstehen (z.B. Spermien). Man spricht hier von sequestrierten Antigenen.

Gegen derartige Antigene kann unter gewissen Umständen das Immunsystem irgendwann im Leben sensibilisiert werden, wenn sie nämlich etwa durch Infektion oder Verletzung in Blut- oder Lymphbahnen gelangen und mit immunkompetenten Lymphozyten in Kontakt treten. Dann kann ohne eine krankhafte Veränderung des Immunsystems eine Autoimmunisierung auftreten und eine Autoaggressionskrankheit hervorrufen.

Man kennt die Hashimoto-Thyreoiditis, bei der zytotoxische komplementbindende Autoantikörper gegen Thyreoglobuline, mikrosomale Antigene und Oberflächenantigene nachgewiesen sind. Eine andere durch solche Phänomene hervorgerufene Erkrankung ist die Orchitis.

Es kommen jedoch noch andere Möglichkeiten für das Entstehen einer Autoimmunisierung in Betracht: so können die Ursachen in einer Veränderung von bestimmten autologen Antigenen liegen. Das autologe Antigen wird nicht mehr als zum "Selbst" gehörig identifiziert und vom Immunsystem angegriffen.

Andererseits kann auch das Immunsystem selbst eine krankhafte Veränderung erfahren und gegen ganz normale Autoantigene reagieren.

Ersteres, also die Veränderung von bis dahin tolerierten Autoantigenen, kann z.B. durch Noxen chemischer oder physikalischer Art, aber auch durch Infektion mit einem Virus geschehen. Die betreffenden determinanten Strukturen brauchen dabei nur geringe Änderungen erfahren. Ferner ist eine Kopplung von Haptenen an autologe Antigene möglich. Diese Haptene erreichen durch die Bindung Vollantigencharakter und Immunogenität. Bei den sich daraus ergebenden Immunreaktionen werden auch die an sie gebundenen Autoantigene geschädigt.

Wird das Immunsystem gegen fremde Antigene sensibilisiert, die mit körpereigenen Substanzen gleiche determinanten Strukturen besitzen und bildet es dagegen Antikörper, so können diese auch mit den Determinanten auf den Autoantigenen kreuzreagieren und so zur Autoimmunisierung führen. So besitzen z.B.  $\beta$ -hämolyisierende Streptokokken der Gruppe A Antigene, die der Antigenstruktur menschlicher Herzzellen ähneln. Gegen diese Streptokokken gerichtete Antikörper können auch mit dem Herzgewebe reagieren.

Beispiel für die Entstehung von Autoaggression durch Veränderung des Immunsystems ist das Auftreten mutierter Lymphozyten, sogenannter "forbidden clones". Diese erkennen körpereigene Substanzen nicht mehr und reagieren gegen sie wie gegen Fremdatigene. Normalerweise werden zwar dieserart mutierte Lymphozyten sehr schnell als "fremd" erkannt und zerstört. Wenn ihnen aber bestimmte Oberflächenantigene fehlen - man bezeichnet sie dann als antigenetisch negative Mutanten - können sie sich ungestört weiterentwickeln und Strukturen ihres eigenen Wirtsorganismus angreifen. Bei malignen System-

erkrankungen des lymphoretikulären Gewebes wie z.B. Lymphogranulomatose und Lymphosarkom kann man ein solches Geschehen annehmen. Es ist bekannt, daß bei diesen primären Erkrankungen des Immunsystems häufig Autoaggressionkrankheiten auftreten. So kann man z.B. oft Vergesellschaftungen von autoimmunen hämolytischen Anämien, Thyreoiditiden, Thrombozytopenien und Lupus Erythematodes mit Lymphadenosen, Lymphogranulomatosen, Lymphosarkomen und Retikulosen finden. Deshalb kann mit grosser Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß primäre Veränderungen am Immunsystem Autoimmunkrankheiten hervorrufen können.

Es sollen hier nun einige Krankheitsbilder geschildert werden, die durch Autoimmunphänomene hervorgerufen werden. Allerdings bleibt auch bei diesen Erkrankungen zu prüfen, ob Autoaggression als primärer Kausalfaktor eine Rolle spielt, oder ob sie nur als Folge- oder Begleiterscheinung auftritt.

Autoimmunerkrankungen können sich isoliert an bestimmten Zelltypen oder Organen (z.B. Erythrozyten, Schilddrüse) abspielen, oder an mehreren Organen und Geweben gleichzeitig auftreten, wie z.B. der Lupus Erythematodes.

Das entscheidende immunpathologische Merkmal des Lupus Erythematodes (L.E.) ist das Auftreten von Autoantikörpern gegen autologes Kernmaterial, nämlich gegen DNA. Diese Antikörper reagieren mit den wahrscheinlich durch Zelluntergänge freiwerdenden Kernsubstanzen unter Bildung von zur Komplexbindung fähigen Immunkomplexen. Diese lagern sich speziell in den Wänden kleiner Blutgefäße und in den Nieren auf den Membranen der Glomerula ab. Dort binden und aktivieren sie Komplement und induzieren eine Immunkomplexvaskulitis. Es spielt sich eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Typ III wie oben beschrieben ab, die Entzündungserscheinungen an vorher gesundem Gewebe hervorruft. Diese Geschehnisse können sich außer in Haut und Niere auch in anderen Organen abspielen. Von Art und Ausmaß des Organbefalls hängt wesentlich die Krankheitsprognose ab. Todesursache bei L.E. sind z.B. Urämie, zentralnervöse Ausfälle oder nicht zu beherrschende

bakterielle Komplikationen. Die genaue Ätiologie des L.E. ist noch immer unbekannt. Möglich ist eine durch ein Virus verursachte Änderung des Kernmaterials und eine daraus resultierende Induktion der immunpathologischen Phänomene. Auslösendes Agens der Erkrankung wäre somit eigentlich das Virus, die immunologischen Folgen würden allerdings erst zur klinischen Manifestation führen.

Bei der Primär Chronischen Polyarthrit (P.C.P.) soll ein Autoantikörper - der sogenannte Rheumafaktor - gegen IgG gebildet werden und mit IgG-Antikörpern reagieren. Diese Immunkomplexe rufen dann die Entzündungserscheinungen in den Gelenken hervor.

Eine weitere Autoaggressionskrankheit ist die perniziöse Anämie. Hier ergibt sich neben histaminrefraktärer Anacidität auch eine Atrophie der Schleimhaut am Korpus-Fundus-Bereich des Magens. Auch zytotoxische Autoantikörper gegen die mikrosomale Fraktion der Belegzellen hat man nachgewiesen. Außerdem wird die Bildung des Intrinsic factor vermindert oder gar eingestellt, der zur Resorption des für die Blutbildung notwendigen Vitamins B<sub>12</sub> notwendig wäre. Auch gegen diesen Intrinsic factor und gegen den Vitamin B<sub>12</sub>-Intrinsic factor-Komplex gerichtete Antikörper sind häufig nachweisbar. Vereinzelt tritt die Erkrankung mit familiärer Häufung auf. Auch bei der oben schon erwähnten autoimmunen Hashimoto-Thyreoiditis kommen zytotoxische, komplementbindende Autoantikörper vor, die sich gegen Thyreoglobulin, mikrosomale Antigene und Oberflächenantigene des Follikel-epithels richten. Hier spielt sich eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Typ II ab.

Ähnliche Autoantikörper findet man auch bei idiopathischen Formen des Morbus Addison (gegen Antigene der Nebennierenrinde) sowie bei Myasthenia gravis (hier gegen Skelettmuskelantigene).

Autoaggressionskrankheiten können sich auch gegen verschiedene Blutzelltypen richten, so gibt es autoimmunologisch bedingte Thrombozytopenien, Granulozytopenien und Anämien.

nächsten Abschnitt gesondert eingegangen werden.

Die hier angesprochenen Immunphänomene kommen jeweils durch Reaktionen des humoralen Immunsystems zustande, sie werden also durch Antikörper ausgelöst. Sicher können aber auch pathogene Reaktionen des zellulären Immunsystems an Entstehung oder Verlauf von Autoimmunerkrankheiten beteiligt sein. Unter anderem gibt es bei der Immunthyreoiditis und der Colitis ulcerosa Hinweise hierfür.

Alle Autoimmunerkrankungen sind durch einen chronisch-rezidivierenden, autonomen Verlauf gekennzeichnet. Sie rufen in den Zielorganen entzündliche Prozesse hervor, die den Regelabläufen der diversen Grundtypen der pathogenen Immunreaktionen folgen. Ihr chronischer Verlauf könnte z.B. durch eine häufig wiederholte Freisetzung der Autoantigene erklärt werden. Ebenso könnten immer wieder Antigene durch bestimmte Substanzen haptensiert werden. So kann z.B. der Lupus Erythematodes durch Medikamente wie Procainamid, Hydralazin oder Isoniazid hervorgerufen werden und nach Absetzen dieser Stoffe wieder abklingen.

Andererseits kann auch eine Autonomie der abartigen immunkompetenten Zellen den chronischen Krankheitsverlauf aufrechterhalten.

Da bei Autoaggressionskrankheiten oft Thymome oder Thymushyperplasien auftreten, kann man ein Mitwirken dieses Organs beim Entstehen der Erkrankungen nicht ausschließen. Die Rolle des Thymus als Reifungs- und Ausleseorgan wurde ja schon geschildert.

Es ist schon erwähnt worden, daß bei den meisten der angeführten Erkrankungen noch zu prüfen bleibt, ob die Autoaggression bei ihren Entwicklungen als primärer Kausal- oder als Begleitfaktor fungiert. SANDRITTER (1974) schreibt dazu: "Der gesicherte Nachweis über das Vorliegen einer Autoimmunerkrankung ist in vielen Fällen sehr schwer und bei den meisten Erkrankungen nicht exakt geführt. Es genügt nicht, daß Autoantikörper oder Autoantigene gegen gewisse Gewebe nach-

gewiesen werden. Die Krankheit muß mit Blutserum oder -zelle im Tierversuch auch übertragbar und zu erzeugen sein!" Von McKAY und BURNET wurden fünf Kennzeichen als Richtlinien für die Definition "Autoimmunerkrankung" vorgeschlagen, die auch NOSSAL (1972) vertritt:

1. Autoantikörper gegen eine oder mehrere Gewebearten müssen nachzuweisen sein.
2. Die Gesamtmenge Immunglobulin im Serum des Patienten liegt weit oberhalb der normalen Grenze.
3. In den betroffenen Geweben sammeln sich Lymphozyten und Plasmazellen an.
4. Der Zustand des Patienten ist mit Immunsuppressiva zu bessern.
5. Mehr als eine Manifestation von Autoimmunität in einem Patienten, häufig Autoaggressionssymptome in der ganzen Familie.

NOSSAL (1972) meint dazu: "Immunobiology is a branch of science, in which the expression >final proof< must be used with even greater caution than usual".

Unter diesen Aspekten sollen unten die Ergebnisse unserer Untersuchungen diskutiert werden.

Dieses Kapitel soll im Hinblick auf die vorliegende Arbeit einen Überblick über Grundlagen, Prinzipien und Aussagefähigkeit der heute angewandten direkten und indirekten Immunfluoreszenzverfahren geben. Eine genaue Beschreibung z.B. der Herstellung der Antikörper und ihrer Markierung mit Fluorochromen, der Charakterisierung und Qualitätskontrolle der Konjugate, der Schnittechniken, der Anfertigung von Dauerpräparaten und anderer Dinge mehr würde hier zu weit führen und soll den entsprechenden Veröffentlichungen vorbehalten bleiben.

Für die vorliegende Arbeit relevante Methoden und Techniken sowie der genaue Arbeitsgang zur Herstellung unserer Präparate wurden bereits in Kapitel 2.2. Methode beschrieben.

### 5.2.1. Primär- und Sekundärfluoreszenz

Physikalisch ist Fluoreszenz definiert als die Eigenschaft eines Stoffes, bei Belichtung ohne merkliche Trägheit selbst zu leuchten. Dabei hat das von dem fluoreszierenden Stoff emittierte Licht weniger Energie und eine höhere Wellenlänge als das von ihm absorbierte Licht. So wird z.B. aus unsichtbarer UV-Einstrahlung von  $\lambda = 365 \text{ nm}$  eine sichtbare Fluoreszenzstrahlung von  $\lambda = 555 \text{ nm}$  und grüner Farbe.

Wenn an unbehandelten Präparaten Fluoreszenzerscheinungen auftreten, so bezeichnet man diese als Primär- oder Eigenfluoreszenz. Erzeugung von Fluoreszenz mit fluoreszierenden Substanzen entspricht der Sekundärfluoreszenz. Diese fluoreszierenden Substanzen, Fluorochrome genannt, können schon in äußerst geringen Konzentrationen verwendet werden und haben daher kaum schädigende Wirkungen auf lebende Präparate, so daß auch intravitale Untersuchungen möglich sind.

## 5.2.2. Prinzipien und Methoden der direkten und indirekten Immunfluoreszenz

COONS und seine Mitarbeiter veröffentlichten 1941, 1942 und 1950 die ersten Arbeiten, in denen Methoden zum histologischen Nachweis von Proteinen mittels fluoreszenzmarkierter Antikörper zur Anwendung kamen. Damit gelang es erstmals, die hohe Nachweisempfindlichkeit fluoreszenzmikroskopischer Methoden mit der Spezifität serologischer Verfahren zu verbinden. Inzwischen sind die als Immunfluoreszenz bekannt gewordenen Methoden zur breiten Anwendung auf vielen Arbeitsgebieten gekommen. Einer der großen Vorteile der Immunfluoreszenz besteht z.B. darin, daß nicht nur entschieden werden kann, ob eine Antigen-Antikörper-Reaktion stattgefunden hat, sondern auch, wo sie stattgefunden hat.

Das einfachste immunhistologische Verfahren ist die direkte Methode oder die Einschichtmethode der Immunfluoreszenz (COONS und KAPLAN, 1950; GITLIN et al., 1953). Dabei wird zum Nachweis eines Antigens auf den histologischen Schnitt eine Lösung fluoreszenzmarkierter Antikörper gebracht, das sogenannte Konjugat. Nach einer je nach System unterschiedlich langen Inkubationszeit auf das Antigen wird die überschüssige Antikörperlösung, die diejenigen Antikörper enthält, die sich nicht oder nur locker an das nachzuweisende Antigen gebunden haben, abgespült. Auf dem Schnitt bleiben lediglich spezifisch gebundene markierte Antikörper, die dann bei Betrachtung im Fluoreszenzmikroskop die Lokalisation der antigenen Strukturen anzeigt. Im umgekehrten Falle läßt sich auch ein Antikörper durch ein markiertes Antigen nachweisen.

Bei den indirekten oder auch Zwei- oder Mehrschichtmethoden, die von WELLER und COONS (1954) und von BENTNER, MOLBOROW und JOHNSON (1965) entwickelt und verfeinert wurden, wird in einer ersten Reaktion ein unmarkierter Antikörper einge-

schaltet, der sich, genau wie bei der direkten Methode der markierte Antikörper, am Antigen des Schnittes niederschlägt. Nach Abspülen des Überstandes wird in einer zweiten Reaktion dann ein markierter Antikörper hinzugegeben, der sich gegen das Globulin der Spezies richtet, aus der der erste unmarkierte Antikörper stammt. Dieser erste, zu untersuchende Antikörper, der z.B. wie in unserem Falle aus einem bestimmten Patientenserum stammen kann, wird also durch den in der zweiten Reaktion verwendeten, markierten Antikörper sichtbar gemacht. Dadurch kann man Quantität und Lokalisation seiner Reaktion bestimmen. Auch das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein antigenen Strukturen im Schnitt wird damit nachgewiesen.

So sollten bei unseren Untersuchungen in Seren von Patienten mit chronischer Pankreatitis Antikörper gegen Pankreasgewebe nachgewiesen werden. Dazu wurden die Seren auf Schnitte gebracht, die das Antigen (exokrines Pankreasgewebe) enthalten. Während der ersten Inkubation können sich eventuell in den Seren enthaltene Antikörper gegen Pankreasgewebe an Gewebstrukturen im Schnitt binden, die diese Antigene enthalten. Nach der ersten Inkubation werden beim sorgfältigen Spülen überschüssige und nur locker gebundene Antikörper entfernt. Im Schnitt sind nun Antikörper aus den Seren an Gewebe gebunden, jedoch noch nicht sichtbar. Sie werden nun durch die zweite Reaktion ("indirekt") nachgewiesen, bei der man fluoreszenzmarkierte Antikörper zugibt, die sich gegen die unmarkierten Antikörper richten.

Bei unserer Arbeit, bei der ja menschliche Antikörper, also Immunglobuline nachgewiesen werden sollten, mußten daher fluoreszenzmarkierte Anti-Humanglobulin-Seren verwendet werden, in unserem Falle Anti-IgA-, Anti-IgG- und Anti-IgM-Seren vom Kaninchen, die heute in guter Qualität im Handel erworben werden können. Daher wird auch hier auf eine Beschreibung zur Herstellung, Markierung und Reinigung der Antiseren verzichtet.

Die indirekte Methode hat der direkten gegenüber den Vorteil einer höheren Empfindlichkeit und der Möglichkeit des Nachweises zellfixierter Antikörper. Ihr Nachteil liegt in einer geringeren Spezifität, so daß sie mehrerer Kontrollen bedarf.

Eine ähnliche Methode ist die Antikomplementmethode, die hier nur am Rande erwähnt sei. Sie beruht auf der Eigenschaft von Antigen-Antikörper-Komplexen, Komplement fest an sich zu binden. Dieses Komplement wird mit markiertem Anti-Komplement nachgewiesen; dadurch können also die Orte von Antigen-Antikörper-Reaktionen dargestellt werden.

### 5.2.3. Nomenklatur der Fluoreszenzerscheinungen

Die Fluoreszenzerscheinungen bei den immunhistologischen Nachweisen unterliegen noch keiner einheitlichen Nomenklatur. Nach BEUTNER et al. (1973) unterscheidet man jedoch zwischen

- Autofluoreszenz (= Primärfluoreszenz). Dies sind Fluoreszenzen von Geweben und Substraten, die nicht mit Konjugaten behandelt wurden.

- Unspezifischer Färbung (NSS = Non Specific Staining). Sie wird durch Färbung hervorgerufen, die nicht auf immunologischen Reaktionen beruht (z.B. durch fluorochrombeladene Proteine), oder durch freien Farbstoff verursacht.
- Spezifischer Färbung (SS = Specific Staining). Sie ist durch immunologische Reaktionen der markierten Proteine mit den spezifischen Antigenen verursacht.

Man kann hier eine erwünschte spezifische Färbung (DSS = Desired Specific Staining) von einer unerwünschten spezifischen Färbung (USS = Undesired Specific Staining) unterscheiden.

#### 5.2.4. Fluoreszenz - Farbstoffe

Es gibt heute eine große Reihe von für die Markierung von Proteinen verwendeten Fluoreszenzfarbstoffen. Die drei folgenden werden davon wohl am häufigsten benutzt:

- Fluoreszeinisothioyanat (FITC)
- 1-Dimethylamino-naphtalin-sulfochlorid-5 (DIS)
- Rhodamin-B-200-isothioyanat.

FITC, das uns hier besonders interessiert, wurde von RIGGS et al. in die Immunhistologie eingeführt. Es ist stabiler und daher besser zu handhaben als das von COONS und Mitarb. verwendete Fluoreszeinisozyanat (FIC). FITC fluoresziert leuchtend grün (520 nm).

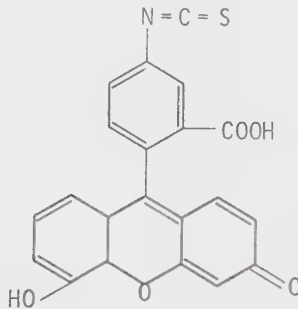


Abb. 13a: Fluoreszeinisothioyanat (FITC)

Bei der Kopplung an den gewünschten Antikörper (also ein Protein) läuft folgende Reaktion ab:

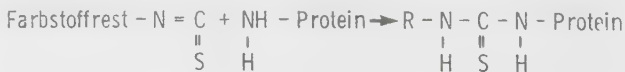


Abb. 13b: Kopplung von FITC an ein Protein (Antikörper)

Bei der Kopplung werden die Fluorochrom/Protein-Verhältnisse (F/P) so gewählt, daß vorhandene funktionelle Gruppen nur geringfügig besetzt werden. So ist das markierte Protein biologisch praktisch unverändert.

Die allgemein von idealen Fluorochromen geforderten Eigenschaften sind folgende (mod. nach CHADWICK et al., 1958; PEARSE, 1968; STORCH, 1977):

- Einfache, schnelle und stabile Bindung mit Antikörper-Protein
- Gleichbleiben der Antikörper-Eigenschaften auch bei längerem Lagern
- Starkes Fluoreszieren auch nach der Markierung ohne unspezifische Färbung
- Gute Unterscheidung von Autofluoreszenz und anderen Fluorochromen (z.B. bei Doppelmarkierung)
- Möglichst geringes Ausbleichen
- Leichte Herstellung, Haltbarkeit, Preiswert, Überprüfbarkeit mit Standard, gute Wasserlöslichkeit
- Hohe Reinheit.

Sicher können die erhältlichen Farbstoffe diese Anforderungen nicht alle in gleicher Weise erfüllen. Einem der wichtigsten Kriterien, der hohen Reinheit, können die käuflichen, an Proteine gekoppelten Farbstoffe jedoch wohl genügen.

#### 5.2.5. Aussagefähigkeit der Immunfluoreszenz

Ein positiver immunhistologischer Befund ist generell durch eine an eine bestimmte Struktur im histologischen Schnitt gebundene Fluoreszenz mit typischer Farbe (in unserem Fall bei FITC grün) bei gleichzeitig unauffälligen Spezifitätskontrollen gekennzeichnet.

Einige Probleme bei der praktischen Ausführung der Immunfluoreszenzmethoden und unerwünscht auftretende Fluoreszenzen

können die Entscheidung zwischen positivem und negativem Befund erschweren oder bei nicht sorgfältiger, adäquater Herstellung der Präparate sogar unmöglich machen:

- Bei der Behandlung des Gewebes während der Herstellung des Schnittes und bei der Verarbeitung des Schnittes bis zum fertigen Präparat kann das im Gewebe enthaltende Antigen zerstört oder verlagert werden. Zur Vermeidung dieser Fehler sind besondere Methoden bei der Herstellung der Schnitte sowie ihrer Fixation zu beachten.

So müssen bei dem von uns gewählten Kryostatschnittverfahren kleine Gewebestücke bei tiefen Temperaturen möglichst schnell eingefroren werden. In unserem Falle geschah dies bei ca.  $-70^{\circ}\text{C}$  durch Verwendung von Kohlendäuseis innerhalb weniger Sekunden.

Die Qualität der Schnitte beeinflusst erheblich den Erfolg der ganzen Methode. So müssen Schnittdicken von 3 bis maximal 8  $\mu\text{m}$  erreicht werden. Die optimale Temperatur während des Schneidens schwankt zwischen  $-18^{\circ}\text{C}$  bis  $-30^{\circ}\text{C}$ , je nach Fettgehalt des Gewebes (bei unseren Arbeiten lag sie etwa bei  $-21^{\circ}\text{C}$ ). Bei Gewebe mit großem Fettanteil sollte sie möglichst tief liegen.

Die zur Aufnahme der Schnitte bestimmten Objektträger müssen gründlich gereinigt sein, damit sie fettfrei sind.

Kryostatschnitte kann man bedenkenlos einige Zeit bei  $-20^{\circ}\text{C}$  lagern, wir haben sie jedoch meist sofort weiterverarbeitet und ausgewertet. Das zu untersuchende Gewebe sollte, wie dies in unserem Falle getan wurde, möglichst wenige Stunden post mortem entnommen werden.

- Das Gewebe, auf dem die zu untersuchenden Seren getestet werden, kann eine unspezifische Eigenfluoreszenz aufweisen. Es empfiehlt sich daher, Leerschnitte (bei uns die Nativschnitte) anzufertigen, um jeweils die Autofluoreszenz auch bei verschiedenen Filterkombinationen erkennen und beurteilen zu können.

Das fluoreszenzmarkierte Serum (Konjugat) kann durch freien,

Bei der Kopplung werden die Fluorochrom/Protein-Verhältnisse (F/P) so gewählt, daß vorhandene funktionelle Gruppen nur ringförmig besetzt werden. So ist das markierte Protein biologisch praktisch unverändert.

Die allgemein von idealen Fluorochromen geforderten Eigenschaften sind folgende (mod. nach CHADWICK et al., 1958; PEARSE, 1968; STORCH, 1977):

- Einfache, schnelle und stabile Bindung mit Antikörper-Protein
- Gleichbleiben der Antikörper-Eigenschaften auch bei längerem Lagern
- Starkes Fluoreszieren auch nach der Markierung ohne unspezifische Färbung
- Gute Unterscheidung von Autofluoreszenz und anderen Fluorochromen (z.B. bei Doppelmarkierung)
- Möglichst geringes Ausbleichen
- Leichte Herstellung, Haltbarkeit, Preiswert, Überprüfbarkeit mit Standard, gute Wasserlöslichkeit
- Hohe Reinheit.

Sicher können die erhältlichen Farbstoffe diese Anforderungen nicht alle in gleicher Weise erfüllen. Einem der wichtigsten Kriterien, der hohen Reinheit, können die käuflichen, an Proteine gekoppelten Farbstoffe jedoch wohl genügen.

#### 5.2.5. Aussagefähigkeit der Immunfluoreszenz

Ein positiver immunhistologischer Befund ist generell durch eine an eine bestimmte Struktur im histologischen Schnitt gebundene Fluoreszenz mit typischer Farbe (in unserem Fall bei FITC grün) bei gleichzeitig unauffälligen Spezifitätskontrollen gekennzeichnet.

Einige Probleme bei der praktischen Ausführung der Immunfluoreszenzmethoden und unerwünscht auftretende Fluoreszenzen

können die Entscheidung zwischen positiven und negativen Befund erschweren oder bei nicht sorgfältiger, adäquater Herstellung der Präparate sogar unmöglich machen:

- Bei der Behandlung des Gewebes während der Herstellung des Schnittes und bei der Verarbeitung des Schnittes bis zum fertigen Präparat kann das im Gewebe enthaltende Antigen zerstört oder verlagert werden. Zur Vermeidung dieser Fehler sind besondere Methoden bei der Herstellung der Schnitte sowie ihrer Fixation zu beachten.

So müssen bei dem von uns gewählten Kryostatschnittverfahren kleine Gewebestücke bei tiefen Temperaturen möglichst schnell eingefroren werden. In unserem Falle geschah dies bei ca.  $-70^{\circ}\text{C}$  durch Verwendung von Kohlendäuseis innerhalb weniger Sekunden.

Die Qualität der Schnitte beeinflusst erheblich den Erfolg der ganzen Methode. So müssen Schnittdicken von 3 bis maximal 8  $\mu\text{m}$  erreicht werden. Die optimale Temperatur während des Schneidens schwankt zwischen  $-18^{\circ}\text{C}$  bis  $-30^{\circ}\text{C}$ , je nach Fettgehalt des Gewebes (bei unseren Arbeiten lag sie etwa bei  $-21^{\circ}\text{C}$ ). Bei Gewebe mit großem Fettanteil sollte sie möglichst tief liegen.

Die zur Aufnahme der Schnitte bestimmten Objektträger müssen gründlich gereinigt sein, damit sie fettfrei sind. Kryostatschnitte kann man bedenkenlos einige Zeit bei  $-20^{\circ}\text{C}$  lagern, wir haben sie jedoch meist sofort weiterverarbeitet und ausgewertet. Das zu untersuchende Gewebe sollte, wie dies in unserem Falle getan wurde, möglichst wenige Stunden post mortem entnommen werden.

- Das Gewebe, auf dem die zu untersuchenden Seren getestet werden, kann eine unspezifische Eigenfluoreszenz aufweisen. Es empfiehlt sich daher, Leerschnitte (bei uns die Nativschnitte) anzufertigen, um jeweils die Autofluoreszenz auch bei verschiedenen Filterkombinationen erkennen und beurteilen zu können.

Das fluoreszenzmarkierte Serum (Konjugat) kann durch freien,

nicht an Antikörper gekoppelten Farbstoff verunreinigt sein. Durch sorgfältige Herstellung und Gelfiltration sind diese Verunreinigungen jedoch bei den heute käuflichen Konjugaten selten und führen im allgemeinen nicht mehr zu Schwierigkeiten.

- Besonders bei hohem F/P-Verhältnis, also bei nicht optimal gekoppelten Konjugaten und bei solchen mit schlechter Wasserlöslichkeit können Strukturen im Gewebe unspezifisch angefärbt werden. Auch eine nicht geeignete Behandlung der Schnitte kann zu solchen falschen Ergebnissen führen. Es empfiehlt sich daher, optimal gekoppelte Antiseren zu verwenden, sowie in Voruntersuchungen die günstigsten Bedingungen zur Herstellung der Präparate zu ermitteln. So sollen z.B. verschiedene Verdünnungen der Seren und Konjugate, die Adsorption an Gewebehomogenaten, Dicke und Fixation der Schnitte und andere Faktoren geprüft werden.
- Antikörper können an physiologische Rezeptoren wie z.B. Fc-Rezeptoren binden. Um dies zu vermeiden, sollten Fc-freie Antikörperbruchstücke verwendet werden.
- Der markierte Antikörper sollte allein für das gesuchte Antigen spezifisch sein, ist diese Bedingung nicht erfüllt, ist der markierte Antikörper also kreuzreagierend oder polyvalent, kommt es zu unerwünschten spezifischen Färbungen (USS), die im Hinblick auf das untersuchte Antigen eigentlich unspezifisch sind.  
Durch den Immunisierungsmodus und die Auswahl geeigneter, spezifisch reagierender Seren kann diese Fehlerquelle von vorneherein möglichst gering gehalten werden. Zusätzlich empfehlen sich jedoch gerade bei der indirekten Immunfluoreszenz, die zwar eine höhere Empfindlichkeit, aber auch eine geringere Spezifität als die direkte Methode aufweist, zahlreiche verschiedene Spezifitätskontrollen.

Folgende Kontrollen werden von verschiedenen Autoren (NAIRN, 1976; GOLDMANN, 1968; CHERRY, GOLDMANN et CARSKI, 1960) vorgeschlagen:

- In Geweben, die das gesuchte Antigen mit Sicherheit nicht enthalten, sollte keine Anfärbung stattfinden.
- Normalseren, also Serum, das vor der Immunisierung vom selben Tier gewonnen wurde, und dann genau wie das Immuns-  
serum markiert und verarbeitet wird, darf keine positiven immunhistologischen Befunde zeigen.
- Bei einer Vorbehandlung des Gewebes mit unmarkiertem Immuns-  
serum vor der Inkubation mit dem markierten Serum sollte keine spezifische Anfärbung auftreten, zumindest sollte die Fluoreszenz jedoch abgeschwächt werden. Bei Vorbehand-  
lung mit Nicht-Immuns-  
serum darf dies nicht der Fall sein. Dieses Vorgehen wird als Inhibitions- oder Hemmtest bezeichnet. Er kann jedoch auch keine vollständige Sicherheit geben, da z.B. bei instabilen Antigen-Antikörper-Komplexen markierte gegen unmarkierte Antikörper ausgetauscht werden können, oder etwa bei der ersten (Hemm-) Inkubation anti-  
gene Determinanten freibleiben könnten.
- Wenn man das markierte Antiserum vor der Verwendung mit dem homologen Antigen absorbiert oder mit einer Lösung des homologen Antigens verdünnt, sollte eine positive Färbung verhindert werden. Bei Absorption oder Verdünnung mit nicht homologem Antigen darf die Färbung nicht gehemmt werden.
- Auch bei Anwendung der markierten Antiseren in verdünnten Lösungen sollten Anfärbungen zu erzielen sein.
- Bei Antikomplementmethoden sollte durch Inaktivierung des Komplements oder bei Anwendung heterologen Komplements eine Anfärbung verhindert werden.
- Wie bereits erwähnt wurde, sollen Fc-freie Antikörper-  
Bruchstücke verwendet werden, um Bindungen an Fc-Rezeptoren zu vermeiden.

Bei der heutigen industriellen Fertigung der käuflichen Antiseren werden alle diese Fehlerquellen bereits genügend berücksichtigt und in speziellen Kontroll- und Testsystemen hoch

spezifische Antiseren ausgewählt, bei deren Verarbeitung dann relativ einfache, im folgenden Abschnitt für die uns interessierenden direkten und indirekten Methoden aufgeführte Kontrollen genügen, um einen sicheren immunhistologischen Befund zu erheben.

#### 5.2.6. Kontrollen bei indirekten und direkten Immunfluoreszenzmethoden

Kontrollen bei direkten IF-Methoden:

- Ein HE-Schnitt oder eine andere Färbung des untersuchten Gewebes sollte angefertigt werden, um sich genaue Übersicht zu verschaffen und sich im Fluoreszenzpräparat gut orientieren zu können.
- Ein "Leerschnitt" soll zum Erkennen der Eigenfluoreszenz des Gewebes untersucht werden.
- "Negativ-Kontrollen" müssen gemacht werden, das sind Präparate von Geweben, die die untersuchten Antigene nicht enthalten.
- Es sollte auch mit einem Antiserum gegen andere Antigene untersucht werden, z.B. zum Nachweis einer Exsudation mit Anti-Humanalbumin-Seren.
- Natürlich darf auch eine "Positiv-Kontrolle" nicht fehlen, also ein Präparat, das die Antigene enthält.

Kontrollen bei der indirekten Immunfluoreszenz:

- Auch hier ist ein HE-Schnitt zur Übersicht von Nutzen.
- Der Leerschnitt zur Definition der Eigenfluoreszenz muß ebenso angefertigt werden, bei uns repräsentiert durch die Nativschnitte der 4 untersuchten Organe.
- Weiterhin sollte eine Antiserumkontrolle durchgeführt werden, bei der nur mit dem Konjugat inkubiert wird. Damit können unspezifische Färbungen erkannt werden. Bei uns

sind dies die Pankreas-, Herz-, Muskel- und Leberpräparate, die nur mit Anti-IgA, Anti-IgG und Anti-IgM inkubiert wurden.

- "Normalserum"- oder "Negativ-Kontrolle".

Hier wird mit einem niedrig verdünnten Normalserum inkubiert, um eine unspezifische Bindung von Proteinen zu erkennen, die zwar keine spezifische Antikörper sind, jedoch bei hoher Konzentration an das Antigen binden und auch durch sorgfältiges Spülen nicht entfernt werden können. Dies tritt jedoch meist nur bei hohem Proteingehalt des Antiserums auf. Eine "Negativkontrolle" ist z.B. ein Präparat, das das untersuchte Antigen nicht enthält, aber genauso wie der histologische Schnitt mit dem Antigen behandelt wird. Bei uns sind diese Kontrollen die Schnitte von Leber, Herz und Muskel.

- Auch bei der indirekten Immunfluoreszenz sollen "Positivkontrollen", also Inkubationen mit Standardseren, die bei bestimmten Titern positiv sein müssen, gemacht werden.

#### 5.2.7. Kontrollen bei den eigenen Untersuchungen

Bei unseren Arbeiten wurden hochwertige Antiseren verwendet, sowie zahlreiche Kontrollen wie Leerschnitte, Präparate nur mit Patientenserum und Konjugatkontrollen gemacht, sowie alle diese Kontrollen auch noch auf Präparaten wiederholt, die das "Antigen" exokrines Pankreas nicht enthalten (Leber, Herz, Muskel). Bei der sorgfältigen Herstellung der Präparate, insbesondere durch gründliches Spülen nach den Inkubationen, Verwendung sauberer Objektträger sowie durch richtiges Frieren, Schneiden und Fixieren des untersuchten Gewebes sollten die oben angeführten Fehlerquellen möglichst ausgeschaltet worden sein. So kann sicher von einer hohen Spezifität und Aussagekraft der erzielten Ergebnisse ausgegangen werden. Die Vorteile der indirekten Immunfluoreszenz wie hohe Empfindlich-

keit oder der Nachweis auch zellfixierter Antikörper konnten dabei zu Nutze gemacht werden.

Es sei hier noch erwähnt, daß mit geeigneten Gegenfärbungen die Farbkontraste der Präparate gehoben sowie unspezifische Gewebefluoreszenzen für photographische Zwecke überfärbt werden können, worauf wir jedoch verzichtet haben.

#### 5.2.8. Mikroskopie und Photographie

Hierzu soll nur soviel gesagt werden, daß auch Standardmikroskope zur immunologischen Befundung ausreichen, sofern sie Objektive mit hoher numerischer Apertur sowie Möglichkeiten zur Anbringung eines Spiegels besitzen, um eine UV-Leuchte als Lichtquelle zu benutzen.

Werden die Präparate mit Ölimmersion betrachtet, so müssen fluoreszenzfreie Öle benutzt werden.

Als Lichtquellen kommen zum Beispiel Quecksilber-Höchstdrucklampen, Xenonhochdrucklampen oder Halogenglühlampen in Betracht. Primärfilter werden verwendet, um von dem aus der Lichtquelle kommenden Licht nur die zur Anregung der Fluoreszenz benötigten Anteile durchzulassen, Sekundärfilter, die im Strahlengang hinter dem Objekt liegen, lassen nur das gewünschte Fluoreszenzlicht passieren. Heute gibt es jedoch spezielle Fluoreszenzmikroskope.

Zur Photographie, die wegen des Nachlassens der Leuchtkraft der Präparate zur Befunddokumentation notwendig ist, kann vor allem wegen der geringen Lichtintensität eine Kleinbildkamera verwendet werden. Belichtungsautomaten steuern selbsttätig die erforderlichen Belichtungszeiten, die wegen des Ausbleichens kurz gehalten werden. Wir verfügten bei der Begutachtung unserer Präparate über ein modernes Fluoreszenzmikroskop sowie eine Kleinbildspiegelreflexkamera, hochempfindliche Dia-Farbfilme und eine automatische Belichtungsregelung, die im allgemeinen die Belichtungszeit auf wenige Sekunden beschränkte.

### 5.3. Bisherige Erkenntnisse über immunpathologische Veränderungen am exokrinen Pankreas

"Die Vielfalt der Probleme ist die Ursache für eine gewisse Ratlosigkeit, wenn es sich um die Abklärung erfolgversprechender experimenteller Ansätze handelt" sagte bereits 1964 DOERR vor der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin in seinem Referat über die "Pathogenese der akuten und chronischen Pankreatitis", als er über Theorien und mögliche Ursachen für die Entstehung von Pankreatitiden sprach.

Seitdem gab es zum Thema Pankreatitis eine wahre Flut von wissenschaftlichen Arbeiten, so daß man beinahe an ein Bekenntnis von DOERR erinnert wird, das er ebenfalls in diesem Referat gab:

"Im allgemeinen gilt der Satz, daß die Häufigkeit, mit der über ein Thema referiert wird, im umgekehrten Verhältnis zur Extensität und Intensität des wirklichen Wissens steht."

Ich möchte aber hier doch versuchen, über einige sehr wichtige Arbeiten zu berichten, die sich mit etwaigen immunologischen Beteiligungen an der Pathogenese insbesondere chronischer Pankreatitiden befaßten, um anschließend darauf aufbauend die eigenen Ergebnisse zu diskutieren.

In seinem schon zitierten Referat stellt DOERR weiter fest: "Es gehört zu den bemerkenswertesten Befunden, daß, wenn auch selten, akute und subakute Pankreatitiden gleichzeitig, gleichsinnig und gleichstark an Haupt- und akzessorischem Nebenpankreas auftreten (CAMERON, 1924, BUGARO und WALTERS, 1950). Diese Tatsache kann wahrscheinlich nur im Sinne des Vorliegens eines Autoaggressionsphänomens verständlich gemacht werden (SAINES et al., 1961; SCHÖN, 1964). Für die Kopfspeicheldrüsen sind autoimmunisatorisch bedingte degenerativ-entzündliche Zerstörungen experimentell erwiesen (HAFERKAMP). Wahrscheinlich ist manche primär-chronische Pankreatitis auf diese Weise entstanden."

Nach DOERR (1964) lassen sich Arbeiten zur allergischen Pankreatitis in 3 Gruppen gliedern, nämlich Versuche, die sich der Erzeugung eines Serums-, Histamin-, Pepton-Schockes bedienen, um eine seröse Pankreatitis hervorzurufen, Arbeiten, bei denen die Induktion eines Arthus-Phänomens im Pankreas zu einer hämorrhagisch nekrotisierenden Entzündung führt, und schließlich Arbeiten, die nekrotisierende Pankreatitiden durch Erzeugung eines Schwartzman-Phänomens im Pankreas hervorrufen.

Beim Arthus-Phänomen erfolgt als Prämisse eine allgemeine Sensibilisierung gegen ein bestimmtes Antigen, eine anschließende Erfolgsinjektion des gleichen Antigens in Pankreasgang oder -vene führt meist zu hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitiden (z.B. THAL, 1955). Zur Auslösung einer lokalen Schwartzman-Reaktion im Pankreas wird die Sensibilisierung zunächst durch Injektion des Antigens in den Ductus pancreaticus erreicht, die nachfolgende intravenöse Erfolgsinjektion des Antigens an anderer Körperstelle (etwa Ohrvene) führt über die Schwartzman-Reaktion zu nekrotisierenden Pankreasentzündungen mit starken Gefäßveränderungen.

Schon 1954 zeigten auf diese Weise THAL und BRACKNEY bei Kaninchen und Ziegen fulminante hämorrhagische Pankreatitiden durch Sensibilisierung pankreatischer Blutgefäße gegen bakterielle Toxine. Bakterientoxin wurde in Pankreasgänge eingespritzt, eine nachfolgende i.v. Gabe des gleichen Toxins induzierte eine lokale Schwartzman-Reaktion im Pankreas. Dabei konnten die Autoren häufig eine schnelle Diffusion des Toxins durch intakte Gangwände beobachten.

Wurde in Kontrollexperimenten die Provokativ-Dosis weggelassen, so kam es zu keiner einzigen Pankreasnekrose. Im histologischen Bild fanden sich stets kapilläre und venuläre Hyalin-Thrombosen.

Diese Studie war unternommen worden, um die Rolle der primären Gefäßsensibilisierung in der Pathogenese der hämorrhagischen Pankreatitis zu eruieren. Die Experimente zeigten die

Permeabilität des Pankreasgangsystems für bakterielle Produkte, die mit physiologischen Drücken ohne Gefahr der Ruptur der Gänge eingespritzt worden waren, und somit die Möglichkeit, daß solche Produkte pankreatische Blutgefäße sensibilisieren könnten.

Die erzeugten Pankreasgefäßschäden und die entstehenden hämorrhagischen fulminanten Pankreatitiden zeigen klinische und morphologische Ähnlichkeiten zu entsprechenden Erkrankungen beim Menschen. Deshalb und angesichts der Tatsache, daß beständig in humanhistopathologischen Untersuchungen von hämorrhagischen Pankreasnekrosen starke Gefäßschäden über die ganze Palette von diffusen hyalinen Kapillarthrombosen bis hin zu Nekrosen von Arteriolen, Venolen und größeren Gefäßen sowie Infiltrationen von Entzündungszellen gefunden werden, stellten sich die Autoren die Frage, ob diese Gefäßschäden als Ergebnis des Freiwerdens von Trypsin im Verlauf einer Pankreatitis zu sehen seien oder aber einen Primärfaktor darstellen, der eine hämorrhagische Pankreatitis entstehen läßt.

1955 untersuchte THAL, ob Thrombosen kleiner Gefäße auf den Verlauf einer Pankreatitis Einfluß haben, indem er in Kaninchen künstlich Arthusreaktionen im Pankreas erzeugte. Auch dabei ergaben sich interessante Parallelen zu menschlichen Pankreatitiden. So zeigen sich bei menschlichen interstitiellen Pankreatitiden keine thrombotischen Läsionen im histologischen Bild, während sie bei Pankreasnekrosen häufig zu finden sind. In den Experimenten entwickelten nun hochsensibilisierte Tiere häufig Gefäßthrombosen und anschließend Pankreasnekrosen, während niedrigsensibilisierte Tiere lediglich leukozytäre Infiltrationen und interstitielle Pankreatitiden zeigten.

THAL (1955) berichtet auch über einige andere Arbeiten, die sich mit allergischen Pankreatitiden befassen; speziell führt er eine Arbeit aus dem Jahre 1923 von ACKERMANN an, in der ein Fall dokumentiert ist, bei dem ein Patient nach einer fehlerhaften Bluttransfusion eine akute hämorrhagische Pankreasnekrose entwickelte. Dennoch läßt er die Frage offen,

ob Allergie bei der Entstehung der menschlichen Pankreatitis eine wesentliche Rolle spielt. Er beschränkt sich auf die Aussage, daß Gefäßthrombosen bei der Entstehung von Nekrosen des Pankreas beteiligt sein können.

Ebenfalls mit der Erzeugung von Arthus-Phänomenen befassen sich 1972 SELA et al.. Die Reaktionen wurden hier allerdings nicht an der Bauch-, sondern an der Ohrspeicheldrüse erforscht. Durch Instillation normalen menschlichen Plasmas in die Parotis spezifisch überempfindlich gemachter Ratten wurde eine akute Sialo-Adenitis hervorgerufen.

Alle sensibilisierten Ratten wiesen präzipitierende Antikörper auf, nur wenige zeigten eine Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ. Aus diesem Grund und wegen des histologischen Bildes der Parotiden (akute entzündliche Infiltrate und Destruktion des Parenchyms) nehmen die Verfasser an, daß an Ort und Stelle gebildete Antigen-Antikörper-Komplexe eine pathogene Immunreaktion vom Arthus-Typ (Typ III) auslösten und dadurch die Schädigung hervorriefen.

Ähnliche Mechanismen könnte man sich wohl auch bei den von THAL (1955) beschriebenen experimentellen Pankreatitiden oder bei menschlichen Pankreatitiden (etwa im Verlaufe eines Lupus erythematodes) vorstellen.

SEELIG und SEELIG (1975, 1976) untersuchten die Rolle des Serumkomplements bei der Entstehung der initialen Azinuszellnekrose bei akuten Pankreatitiden. So konnten bei Ratten und Mäusen Azinuszellnekrosen in direkter Nachbarschaft zu an Basalmembranen dargestellten Antikörper- und Komplementablagerungen nach intraduktaler Applikation von Basalmembran-Antikörpern gefunden werden. Bei dekomplementierten Versuchstieren war dies hingegen nicht möglich. Daher vermuten die Autoren, "daß zytolytisch aktives Komplement für den initialen Membranschaden der Azinuszellen bei der akuten autodigestiven Pankreatitis verantwortlich ist." Sie diskutieren, daß die Aktivierung des Komplements sowohl durch immunologische als

auch durch verschiedene nicht-immunologische Reaktionen zustande kommen könnte, und so bei verschiedenen ätiologischen Faktoren ein gemeinsamer formaler pathogenetischer Mechanismus, eben das zytolytisch aktive Komplement, zu einer initialen Azinuszellmembran-Schädigung führen könnte.

Im Falle der Untersuchungen in dieser Arbeit, wo sich die verabreichten Antikörper gegen Basalmembranen von Blutgefäßen gerichtet hatten, müßte demzufolge ein Transfer der Komplement-Faktoren zur Pankreasazinuszelle stattgefunden haben. Als Möglichkeiten für diesen Transfer geben die Autoren ähnliche Phänomene an wie die "'deviated lysis" (ROTHER et al., 1974) oder "reactive lysis" (LACHMANN und THOMPSON, 1970; GOLDMANN et al., 1972)".

Sie erinnern auch daran, daß schon 1964 DOERR identische Bilder der Azinuszellschäden bei verschiedenen Ätiologien gezeigt hat.

Eine Aktivierung des Komplementsystems kann auch ohne immunologische Reaktion als auslösende Ursache für die Entstehung einer akuten Pankreatitis verantwortlich sein (SEELIG und SEELIG, 1975). Die Aktivierung des Komplements wurde dort nicht durch immunologische Mechanismen, sondern durch Injektion von cobra venom factor (CVF), einem in Schlangengift enthaltenem Protein, in das Pankreasgangsystem bewirkt. Dabei entwickelte sich nach anfänglichen mechanischen Pankreasödemen innerhalb einer Stunde vollständig das Bild einer akuten Pankreatitis.

In diesen Experimenten prägten also nicht wie in den zuvor genannten Versuchen, wo ja Antibasalmembranantikörper zur Komplementaktivierung benutzt wurden, primäre Schäden an den Gefäßwänden das Bild der Pankreatitis. Vielmehr standen hier mechanische interstitielle Ödeme teils großen Ausmaßes sowie Nekrosen von parenchymatösem Gewebe und Fettgewebe, zudem eine Leukozytosis im Vordergrund. In den Anfangsstadien dieser

experimentellen Pankreatitiden konnten SEELIG und SEELIG (1975) massive Ablagerungen von Komplement entlang den Bindegewebsspalten und um Azinozytengruppen herum beobachten.

Sie weisen übrigens auch auf eine eventuelle Parallele in der Humanmedizin hin. Demzufolge wird in Trinidad berichtet, daß Patienten, die einen Skorpion-Stich erlitten hatten, zu einem großen Teil anschließend an akuter Pankreatitis erkrankten.

Weiter schreiben die Autoren, daß auch eine intravenöse Injektion von CVP Reaktion im Pankreas hervorruft. Sie konnten in diesem Fall Azinusepithelien mit nicht strukturiertem und geschwollenem Zytoplasma und kleine entzündliche Infiltrate in der Nachbarschaft erweiterter Kapillaren in schmalen Bindegewebsstreifen nachweisen. Diese Infiltrate bestanden aus polymorphkernigen Leukozyten und aus lymphozytären und monozytären Elementen.

Auch bei durch Gallensäuren entstandenen Pankreatitiden stellen sich die Autoren eine initiale, nicht durch immunologische Reaktionen hervorgerufene Komplementaktivierung als auslösenden Faktor vor. In Versuchen bei dekomplementierten Versuchstieren entstand so nach Gallensäureeinspritzung in die Pankreasgänge keine Pankreatitis.

SEELIG und SEELIG (1975) berichten aber auch über verschiedene immunologische Reaktionen, die ebenfalls über Komplementaktivierung zu einer letztendlich die akute tryptische Pankreatitis herbeiführenden initialen Membranschädigung der Azinuszellen führen.

Dabei würden auf dem Boden eines präpankreatitischen "Speicheldödem" (BECKER, 1957; BECKER, 1954; DOERR, 1953; DOERR und BECKER, 1961) Pankreasenzyme, insbesondere Trypsin, aus ihren zymogenen Formen freigesetzt. Dies reiche aber für eine Verdauung der Pankreaszellen nicht aus, es müsse zusätzlich eine Schädigung der Zellmembranen vorhanden sein. In anderen Experi-

menten (SEELIG et al., 1975) konnte nämlich beobachtet werden, daß Azinozyten, die mit autologen Seren und Trypsin inkubiert worden waren, vollständig zerstört wurden. Bei Inkubation mit dekomplementierten Seren und Trypsin konnte dagegen in Kulturmedien keine Zytolyse hervorgerufen werden.

Auch typische Schocksymptome bei akuter tryptischer Pankreatitis erklären sich die Verfasser durch Aktivierung von Komplementfaktoren. Dadurch käme es zur Freisetzung von Transmittern wie Anaphylatoxin, die ihrerseits wieder Histamin aus Mastzellen freisetzen.

Die bis dahin vertretene Ansicht, daß das aus Pankreaszellen bei akuter Pankreatitis freiwerdende Exsudat, welches unter anderem Kallikrein und aktive Phospholipase enthält, die Schocksymptome auslösen würde, versuchen SEELIG und SEELIG (1975) zu widerlegen. Sie begründen das damit, daß Kallikrein oder aktive Phospholipase in anderen Studien kein Histamin freisetzen konnten, das Exsudat der akuten Pankreatitis dazu aber imstande wäre und demnach aktiviertes Komplement enthalten müsse. So käme es zum Anstieg von Histamin im Serum und zu den einem allergischen Schock ähnlichen Allgemeinsymptomen bei akuter Pankreatitis.

Weiterhin bringen sie zum Ausdruck, daß in fortgeschrittenen Stadien einer akuten hämorrhagischen nekrotisierenden Pankreatitis eine auf morphologischen Kriterien basierende Unterscheidung zwischen experimentellen allergischen Pankreatitiden und menschlichen tryptischen Pankreatitiden nicht mehr aufrechterhalten werden könne, obwohl die primären Läsionen experimenteller Pankreatitiden vornehmlich vaskulärer Natur seien. Es wird ferner betont, daß allergische Pankreatitiden noch nicht den vier verschiedenen Grundtypen pathogener Immunreaktionen zugeordnet wurden. Die Autoren führen verschiedene Beispiele allergischer Pankreatitiden an, die auf diversen Mechanismen beruhen. So könnte Komplement z.B. durch zirkulierende Immunkomplexe aktiviert werden. Pankreatitis im Verlaufe eines Lupus erythematoses wäre etwa durch eine Bin-

dung von zirkulierenden Immunkomplexen an Pankreasgefäßwände mit dadurch bedingter Komplementaktivierung zu erklären.

Auch das schon anlässlich der Arbeit von THAL und BRACKNEY (1954) besprochene Schwartzman-Phänomen wird von den Autoren beschrieben. Hier wird ebenfalls dem durch initiale Gefäßschädigung aktiviertem Komplement eine mögliche wichtige Rolle bei der Eskalation zur Azinuszellnekrose zugesprochen.

Die Autoren sehen also bei verschiedenen Ätiologien von Pankreatitiden die Aktivierung von Komplement und die damit verbundenen Auswirkungen auf die Azinozyten, namentlich die initiale Membranschädigung als wichtiges pathogenes Agens an. Verschiedene histologische Bilder erklären sie mit verschiedener Lokalisation der Komplementaktivierung; bei intravasaler Komplementaktivierung stünden demnach Endothelschäden und damit vaskuläre und perivaskuläre Schäden im Vordergrund, bei extravasaler Aktivierung eher die Zerstörung der Azinozyten. Weiterhin sei der Verlauf der akuten Pankreatitis abhängig von anderen Faktoren wie einem initialen "Speichelödem", hohem Enzymgehalt der Azinozyten und anderen, wie etwa der metabolischen Lage der Zelle.

Schlüsselrolle jedoch spielt nach Meinung der Autoren die initiale Membranschädigung an den Azinozyten infolge einer Komplementaktivierung, zu der es nach verschiedenen immunologischen und nicht immunologischen Mechanismen kommen könne.

NIZET (1978) erzeugte in AB-Mäusen eine experimentelle xeno-gene Immun-Pankreatitis durch wiederholte intraperitoneale Injektion von Kaninchen-Immunsereen, die sich gegen gereinigte Pankreasenzyme ( $\alpha$ -Amylase, Lipase, Trypsin) richten. Die Immunisierung erfolgte über Zeiträume von 3 h - 8 d.

Er fand dabei drei unterschiedliche histologische Bilder, nämlich am 2., 3. und 5. Tag multiple Azinuszellnekrosen, am 5. und 9. Tag Azinozytenatrophie mit Entstehung pseudo-kanalikulärer Acini und schließlich ansteigende interstitielle histiolympmphoplasmozytische Pankreatitis am 5. und 9. Tag.

Aufgrund der immunhistologischen Befunde ("peri- und intra-acinäre Ablagerung von Kaninchenglobulinen, spezifische Fixation von Meerschweinchen-Komplement, und Erscheinen von Mausglobulin im exokrinen Mäusepankreas") sowie von Kontrollexperimenten mit normalen Seren von Kaninchen und Mäusen sowie mit physiologischer Kochsalzlösung betrachtet der Autor die Pathogenese der im Experiment erzeugten xenogenen Immunpankreatitis als einen zweiphasigen Vorgang.

So seien zunächst die Azinozytennekrosen hauptsächlich auf zytotoxische, also Typ II-Immunreaktionen zurückzuführen, die eventuell auch noch mit Immunkomplex-, also Typ III-Immunreaktionen kombiniert sein könnten. Die Atrophie der Azinozyten könnte nach Meinung von NIZZE (1978) auf einer spezifischen Reaktion der Enzym-Antikörper mit den entsprechenden Enzymen in den Granula beruhen, die sich in den apikalen Bereichen der Azinozyten befinden.

Gerade dort, sowie auch in mit Sekret gefüllten Azinarlumen und an Azinozytenbasalmembranen konnten die mit den Antiseren zugeführten xenogenen Immunglobuline nachgewiesen werden. Hier ergeben sich Parallelen zu unseren Untersuchungen, bei denen ja auch häufig granuläre, peri- und intraazinäre sowie periazinozytäre Immunfluoreszenz gefunden wurde.

Diese Ergebnisse könne man als Bestätigung der Spezifität der zugeführten Antikörper und ihrer spezifischen Reaktion mit Pankreasenzymen sehen. Die Reaktion dieser Antikörper mit den entsprechenden Enzymen könnte dann die oben genannte Typ II- (zytotoxische) Reaktion auslösen, die ebenfalls schon erwähnte Typ III-Reaktion wäre auf Enzym-Antienzym-Komplexe zurückzuführen, die sich möglicherweise im Azinarlumen aus den sezernierten Enzymen und den zugeführten Antikörpern bilden. Wie es im weiteren Verlauf solcher Immunreaktionen durch Komplementaktivierung und eskalierende Enzymfreisetzung zu ausgedehnten Zell- und Organschäden kommen könnte, ist schon bei SEELIG und SEELIG (1975 und 1976) gezeigt worden.

Als zweite Phase betrachtet NIZZE (1978) die interstitielle histiolymploplasmozytäre Pankreatitis, die sowohl als "a resorp-

tive inflammatory reaction of the "mesenchymal environment" (LINDNER, 1966) in response to the allergically induced acinar cell necrosis" eingeschätzt werden kann, als auch in einer weiteren Immunreaktion in Form einer Serumkrankheit (Immun-Komplexreaktion) begründet sein kann. Diese Serumkrankheit könnte durch Fremderoteine entstehen, die mit den xenogenen Antiseren zugeführt wurden. NIZZE (1973) resümiert schließlich, daß die durch spezifisch gegen Pankreasenzyme gerichtete Antikörper hervorgerufene Pankreatitis den durch gegen Pankreasgewebsantigene gerichtete Antiseren (FREYTAG und KLÖPPEL, 1969) oder durch Antibasalmembran-Antikörper (SEELIG und SEELIG, 1976) erzeugten Pankreatitiden in kausaler und formaler Pathogenese analog ist.

FREYTAG und KLÖPPEL (1969) erzeugten experimentelle Insulitiden und Pankreatitiden nicht durch gegen Enzyme gerichtete Immenserum, sondern durch Immenserum gegen Pankreasextrakte verschiedener Reinheitsgrade. Sie injizierten über 2 bis 14 Tage erwachsenen Wistar-Mäusen Meerschweinchenantiseren, die durch Sensibilisierung mit verschiedenen Antigenextrakten gewonnen worden waren. Die Pankreaten der Versuchstiere wurden pathohistologisch untersucht, zudem wurden der Markierungsindex von  $^3\text{H}$ -Thymidin sowie Blutzucker und Serumamylase bestimmt.

FREYTAG und KLÖPPEL (1969) fanden dabei folgende Ergebnisse: Es bestand eine direkte Beziehung zwischen Stärke und Lokalisation der Entzündungsreaktionen und Art des Antiserums. So führten Antiseren gegen wäßrige Pankreasextrakte zu einer diffusen interstitiellen Pankreatitis mit anfänglichem Anstieg und späterem Abfall der Serum- $\alpha$ -Amylase, während Inselgewebe und Blutzucker normal blieben. Dagegen riefen Antiseren gegen Säure-Alkohol-Pankreasextrakte nur eine herdförmige periduktaläre Entzündungsreaktion hervor, die in direkter Relation zum Reinheitsgrad der Antigenpräparation stand.

Die Zufuhr von Antikörpern gegen hochgereinigtes kristallines Insulin ergab eine akute, von einer diffusen interstitiellen

destruierende Insulitis mit Anstieg des Blutzuckers bei normaler Serum-  $\alpha$ -Amylase.

Als Anpassungsreaktion und Hinweis auf immunologische Reaktionen ließen sich dabei Mitosen und verstärkte  $^3\text{H}$ -Thymidin Markierungen der B-Zellen beobachten.

Bei der Pathogenese sollen nach Meinung der Autoren neben immunologischen Reaktionen auch zytotoxische Faktoren eine Rolle spielen.

FREYTAG und KLÖPPEL (1969) führen die geweblichen Veränderungen auf zwei pathogenetische Mechanismen zurück, nämlich zum einen auf eine "Störung des Stoffwechsels der Organepithelien", zum anderen auf eine "immunologische Entzündung an dem den Organepithelien zugeordneten Gefäßbindegewebe".

Die Stoffwechselstörung der Organepithelien könnte durch eine Beeinträchtigung der zellspezifischen Syntheseleistung durch die übertragenen Antikörper ausgelöst werden. Antikörper gegen biologisch aktive Substanzen wie Enzyme führen unter Bildung von Antigen-Antikörperkomplexen zu einem Verlust der biologischen Aktivität des Antigens.

Beim inkretorischen Pankreasanteil könnten so die zugeführten Insulinantikörper an in der Blutbahn befindliches Insulin binden, und einen Blutzuckeranstieg, eine Anpassungsreaktion mit Degranulierung der B-Zellen bei gesteigerter Insulin-Neuproduktion bis zur Erschöpfung des Inselzellapparates bewirken. Diese äußern sich in hydropischer Umwandlung, Vakuolisierung, Glykogenablagerungen und Kernveränderungen bis hin zum Zelluntergang. Die Autoren erläutern aber, daß immunologische Reaktionen, die das exokrine Pankreas betreffen, schwieriger zu beurteilen seien. Insbesondere stelle sich die Frage, ob "Antikörper gegen Pankreasextrakte die biologische Aktivität des exokrinen Pankreas hemmen und Veränderungen an den Azinusepithelien auslösen".

Solch hemmende Wirkungen könnten sich nach Meinung der Autoren hauptsächlich gegen Pankreasenzyme richten.

So könnten hier Epithelveränderungen bei Tieren, die Antikörper gegen wäßrige Pankreasextrakte erhalten hatten, für

einen "direkten zytotoxischen Einfluß der Antikörper" sprechen. Die Autoren begründen dies folgendermaßen: "Als charakteristisch hierfür lassen sich die wabige Aufhellung des Zytoplasmas, die feindisperse und grobtropfige Kumulierung von Sekretgranula und die Bildung homogener PAS-positiver Koazervate aus neutralen, diastaseresistenten Mucopolysacchariden ansehen .... Vielfach liegen die beschriebenen Koazervate auch in größeren Plaques frei im Interstitium".

Verstärkt werde die Annahme einer primär immunologischen Schädigung der Organepithelien auch durch die "sekundäre, reaktive Proliferation von Azinuszellen, Gangepithelien und B-Zellen mit Zunahme des  $^3\text{H}$ -Thymidin-Markierungsindex". So halten also auch FREYTAG und KLÖPPEL (1969) ähnlich wie NIZZE (1978) die Pankreasenzyme für wichtige antigene Strukturen, obwohl die von ihnen verwendeten Antiseren sich nicht wie bei NIZZE (1978) gegen gereinigte Enzyme, sondern gegen Pankreasextrakte gerichtet hatten. Die Ergebnisse der Versuche mit wäßrigen Pankreasextrakten sprechen nach Meinung der Autoren für eine Spezies- und Organspezifität der Gewebsantigene.

Auch NEVALAINEN, FOWLIE und JANIGAN (1977) lösten bei Mäusen experimentelle Pankreatitiden aus. Sie beobachteten Azinocytennekrosen und Pankreasentzündungen bei Mäusen wenige Stunden nach einer einmaligen intraperitonealen Injektion von Menschenserum. Subletal geschädigte Zellen zeigten einen deutlichen Anstieg der Zymogen-Granula und der Amylase-Aktivität. Dabei zeigten sich Störungen der  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Konzentrationen im Pankreasgewebe; die Sekretionsantwort auf Pilocarpin nahm ab.

Nach Meinung der Autoren war der Anstieg der Granula durch eine Störung der Granulasekretion, also der Exozytose, bei persistierender Enzym-, sprich Granula-Bildung bedingt. Daraus folgerten sie, daß die Enzymsekretion für den Schädigungsmechanismus durch das Fremdserum anfälliger sei als der

Syntheseprozess. Der Anstieg der Granula in den Azinozyten entwickelte sich fast über die ganze nichtnekrotische Drüse und hielt für mindestens 24 Stunden an. Trotzdem erreichte die Nekrose der Azinozyten ihre größte Ausdehnung schon nach 12 - 15 Stunden, wobei annähernd 25 % der Drüse in schwerster Form geschädigt wurden. Daraus leiten die Autoren ab, daß der Enzymgranulaanstieg weder der primär bestimmende Faktor noch der Initiator des Azinozytenuntergangs sein könne. Sie nehmen eher an, daß in manchen Zellen gestörte Membranfunktionen genügen, um tödliche Änderungen der Ionen- und Flüssigkeitszusammensetzung hervorzurufen, und so die Azinozytennekrosen zu bewirken.

Welcher Schädigungsmechanismus es allerdings ermögliche, bei verminderter Granulaexozytose die Enzymsynthese aufrechtzuerhalten, müsse noch herausgearbeitet werden.

Wahrscheinlich sei eine subletale Reaktivität von Serumfaktoren mit der Zellmembran der Azinozyten die Basis für die Elektrolytstörungen. Möglicherweise könnte dann die Sekretionsstörung nur eine frühe, unspezifische Konsequenz der gestörten Ionenverteilung in den Azinuszellen sein.

Ferner räumen die Autoren ein, daß Serumfaktoren auch mit Oberflächenrezeptoren der Azinozyten etwa für hormonale oder pharmakogene Agentien (z.B. Pankreozymin, Pilokarpin) reagieren könnten und so die Zellantworten auf solche Faktoren beeinträchtigen würden.

Sie erläutern, daß Pilokarpin, das Enzymsekretion und Exozytose von Pankreasenzymen stimuliert, weder die Entstehungsrate noch den Grad der Nekrosen beeinflusste, selbst wenn es kurz nach Serumgabe injiziert worden war. Weiterhin hätten weder freies Trypsin noch proteolytische Enzymaktivitäten bis zu 24 Stunden nach Serumgabe nachgewiesen werden können. Aus diesen Gründen ist es nach Ansicht der Verfasser fraglich, ob der Anstieg der Enzymgranula in den Azinozyten für Entstehung und Ausmaß von Pankreasnekrosen verantwortlich gemacht werden könne.

NEVALAINEN (1978) untersuchte die Reaktion von Rattenpankreaszellen auf serumvermittelte Schädigung in vitro. Dazu wurden diese Zellen mit normalem und inaktiviertem Kaninchenserum inkubiert, anschließend erfolgte die Auswertung mit dem Elektronenmikroskop.

Als frühe Veränderungen der Azinozyten, die mit normalem Serum inkubiert worden waren, zeigten sich geschwollenes endoplasmatisches Retikulum und geschwollene Mitochondrien. In nekrotischen Zellen zeigte sich das endoplasmatische Retikulum in Blasen zerbrochen. Die Mitochondrien enthielten dort große dichte Granula von unregelmäßiger Form in der Matrix. NEVALAINEN (1978) betont, daß die Enzymgranula erhalten waren. Auch in definitiv nekrotischen Zellen konnte keine Enzymfreisetzung beobachtet werden, in diesem Modell konnte man also keine Autodigestion annehmen.

Wurden die Zellen mit hitzeinaktivierten, also dekomplementierten Seren inkubiert, konnten im Elektronenmikroskop keine pathologischen Veränderungen beobachtet werden.

Daraus zog der Autor folgende Schlüsse:

Frisches Kaninchenserum war für Rattenpankreaszellen in vitro zytotoxisch. Dabei sei die Schädigung der Azinozyten "eher ein komplementabhängiges Phänomen, das durch eine schnelle Membranschädigung vermittelt sei, als durch Zymogen-Aktivierung und Autodigestion verursacht".

NEVALAINEN (1978) erläutert ferner, daß die Studie in vitro gemacht worden war, um Effekte von humoralen Entzündungsmediatoren wie endogenem Komplement auszuschließen, die in vivo an der Zellschädigung teilhaben könnten (z.B. SEELIG und SEELIG, 1975a und b; SEELIG et al., 1976).

In den von NEVALAINEN (1978) verwendeten Seren lagen keine spezifischen Antikörper gegen Rattenpankreas vor. Die Schädigung muß also durch das Komplement hervorgerufen worden sein. Dadurch ergibt sich hier eine interessante Parallele zu den oben besprochenen Arbeiten von SEELIG und SEELIG (1975 und 1976), in denen eine schädigende Wirkung von Komplement nicht

nur im Zusammenhang mit Immunreaktionen gesehen worden war, sondern für die Aktivierung von Komplement auch andere Möglichkeiten angeführt wurden, etwa ein Endotheldefekt.

Die Erhaltung der Enzymgranula läßt auch in dieser Arbeit den Schluß zu, daß eine Autodigestion in vivo nicht unbedingt eine ursächliche Rolle bei Pankreasnekrosen spielen muß.

Darin ergibt sich eine Übereinstimmung mit dem zuvor besprochenen Artikel von NEVALAINEN, FOWLIE und JANIGAN (1977), in dem ja ebenfalls im Verlauf von experimentellen Pankreatitiden bis hin zur Azinuszellnekrose kein freies Trypsin oder proteolytische Enzymaktivitäten nachgewiesen werden konnten.

JANIGAN, NEVALAINEN, MACAULY und VETHAMANY (1975) haben Mäusen frisches menschliches Serum intraperitoneal injiziert, Innerhalb weniger Stunden nach einer einzigen Injektion dieses Serums entwickelten die Mäuse Azinozytennekrosen und Entzündungen, Fettnekrosen, einen Serumamylaseanstieg und einen Schockzustand, also das Bild einer akuten Pankreatitis. Das Ausmaß der Schädigungen und die Zahl der beobachteten Todesfälle waren stark dosisabhängig. Durch Fastenperioden und durch Pilokarpin waren sie nicht merklich beeinflussbar. Erste Zellveränderungen und Nekrosen wurden meist in subserösen Azini beobachtet. Sie begannen mit unspezifischen Schwellungen zytoplasmatischer Kompartimente, die teils reversibel waren, teils aber auch den zytoplasmatischen Abbauvorgängen vorausgingen, die sich in Zellen entwickelten, die schließlich nekrotisch wurden.

Dabei sei zu beobachten gewesen, daß weder vor noch während dieses Aufschwellens der Zellkompartimente eine Auflösung von Zymogen-Granula erfolgte. Diese fand erst gleichzeitig mit dem Zelluntergang statt. Es wird betont, daß aber auch in nekrotischen Zellen noch intakte Granula gefunden wurden!

Daraus folgern die Autoren, daß der Schädigungsmechanismus mit einem Kontakt des zugeführten Fremdserums mit der Azino-

zytenoberfläche beginnen müsse und unabhängig von der Enzymsekretion und einer Trypsinaktivierung sei. Aus diesem Kontakt der Azinozyten mit dem Fremdserum resultiere eine schnelle Störung der Membran-Permeabilität, deren Ausmaß das Schicksal der betroffenen Zelle bestimme.

Nach Ansicht der Autoren sollten diese gefundenen Ergebnisse dazu beitragen, über die bisherige traditionelle Meinung, daß Zymogene bei der Entstehung der akuten Pankreatitis eine sehr wichtige Rolle spielen, nachzudenken, und auf eine mögliche pathogenetische Verbindung zwischen Pankreatitis und Produkten von Immunreaktionen oder zumindest immunreaktionverwandten Phänomenen hinweisen.

RICHTER (1974) fand in Versuchen am exokrinen Rattenpankreas mit Immunsereen, die präzipitierende Antikörper beispielsweise gegen getrennte Gewebehomogenisate, menschliches Pankreas,  $\alpha$ -Amylase oder Trypsin enthielten, daß die Sekretionskinetik erheblich gestört wird, eine Entkopplung von Enzymproteinbildung und Membranproteinbildung erfolgt, ein hochgradiges interstitielles Ödem und eine geringfügige zelluläre Reaktion auftritt und es zu Zerfall der Läppchen- und Azinusperipherie sowie zu einer Dystrophie der Azinusepithelien kommt.

Diese Ergebnisse zeigen also in wichtigen Punkten Übereinstimmung mit den Befunden von FREYTAG und KLÖPPEL (1969), NEVALAINEN, FOWLIE und JANIGAN (1977) oder JANIGAN, NEVALAINEN, MACAULY und VETHIAMANY (1975).

Von RICHTER (1978) wurden auch Kaninchen gegen Rattenpankreas immunisiert. Die dadurch erhaltenen Kaninchenantisera wurden durch Absorption gereinigt, so daß reine Antirattenpankreassera entstanden. Diese wurden Wistarratten einmal pro Woche zu 1 ml über maximal 26 Wochen intraperitoneal appliziert. Es folgten dann lichtmikroskopische Untersuchungen von Pankreas, Kopfspeicheldrüsen, Gehirn, Lunge, Herz, Nieren, Leber, Dünn- und Dickdarm, Milz und Mesenterium.

Dabei konnten nach anfänglich dystrophischen und nekrobiotischen Veränderungen am Azinusepithel ab der 8. bis 10. Versuchswoche hauptsächlich lymphozytäre entzündliche Reaktionen beobachtet werden. Später umfaßten die Entzündungsreaktionen das gesamte Pankreas.

Das histologische Bild zeigte dann lobulär unterschiedlich stark ausgeprägte Reaktionen mit periduktalen Fibrosen der Ausführungsgänge, chronischen Entzündungsinfiltraten, Kaliberschwankungen und Gangunregelmäßigkeiten. Zugrundegegangenes Drüsengewebe wurde durch Narbengewebe ersetzt. Ähnliche Veränderungen konnten auch bei aktiver Immunisierung von Wistar-ratten mit isologen Pankreasantigenen beobachtet werden.

Eine Verbindung dieser Versuchsergebnisse zu idiopathischen chronisch-entzündlichen Pankreasschäden beim Menschen, insbesondere zur autoimmunologischen Genese dieser Erkrankungen wurde für möglich gehalten.

Die bisher vorgestellten Arbeiten zeigen alle einige wichtige gemeinsame Grundzüge. So wird mehrfach die wichtige Rolle von Komplement bei der Entstehung von initialen Schäden herausgearbeitet, die schließlich zu Pankreasnekrosen führen können. Die Aktivierung des Komplements kann durch immunologische und nicht immunologische Mechanismen bewirkt werden (SEELIG und SEELIG, 1975 und 1976; NEVALAINEN, 1978).

Als initiale Schäden werden mehrfach Auswirkungen immunologischer Reaktionen oder Komplementwirkungen an Azinozytenmembranen oder an Gefäßwänden dargestellt (THAL und BRACKNEY, 1954; THAL, 1955; SELA et al., 1972; SEELIG und SEELIG, 1975 und 1976; NEVALAINEN, FOWLIE und JANIGAN, 1977; JANIGAN, NEVALAINEN, MACAULY und VETHAMANY, 1975; FREYTAG und KLÖPPEL, 1969).

Als mögliche Angriffspunkte mit antigenem Charakter im Pankreas werden für die Antiseren verschiedentlich auch Enzyme genannt (NIZZE, 1978; FREYTAG und KLÖPPEL, 1969), andererseits wird die Rolle der Autodigestion durch Freiwerden und

Aktivierung pankreascigener Enzyme für die Entstehung von nekrotisierenden Pankreatitiden für nicht so bedeutsam, teils sogar nicht als Primärfaktor eingeschätzt (NEVALAINEN, FOWLIE, JANIGAN, 1977; JANIGAN, NEVALAINEN, MACAULAY und VETHAMANY, 1975; NEVALAINEN, 1978; SEELIG et al., 1975).

Mit der Art der Antikörper und Antigene des Pankreas (Iso- oder Autoantikörper bzw. -Antigene) beschäftigen sich zahlreiche Arbeiten. So konnten ROSE, NETZGAR und WITEBSKY (1960) in umfangreichen Untersuchungen bei Versuchstieren (Kaninchen), die gegen homologes Pankreas immunisiert worden waren, Antikörper gegen homologe Pankreaten finden, während gegen auto-loges Pankreas keine Antikörper nachzuweisen waren.

Die nachgewiesenen Antikörper werden daher wie in Arbeiten mit menschlichen Seren (THAL et al., 1959 und 1960) eher als Iso- denn als Autoantikörper bezeichnet. Das Vorhandensein dieser Antikörper konnte durch Komplementfixation, Präzipitation und passive kutane Anaphylaxie verifiziert werden.

Durch Absorption mit Pankreasextrakten bestimmter Individuen, nicht aber aller Versuchstiere, konnten sie aus den Seren entfernt werden.

Die Absorption der Anti-Kaninchenpankreas-Kaninchenserum mit Kaninchenserum, Erys, Schleimhautzellen aus Gastrointestinal- und Urogenitaltrakt oder anderen Kaninchenorganen konnte die Kaninchenpankreas-Isoantikörper nicht entfernen, auch nicht, wenn diese Kontrollorgane aus einem Kaninchen stammten, dessen Pankreas positive Reaktionen hervorgerufen hatte.

Ferner konnte eine Absorption der Antiseren mit menschlichen A-, B- und O-Erythrozyten oder Schafserythrozyten die homologe Reaktion mit Kaninchenpankreas nicht unterbinden. In einer heterogenen Abstammung der untersuchten Kaninchen konnte die Existenz von mindestens 3 verschiedenen Pankreasisoantigenen nachgewiesen werden. Ähnliche Antigene wurden in Versuchstieren anderer Spezies nicht gefunden, obwohl auch diese pankreasspezifische Antigene enthielten. Die Anti-Kaninchen-

pankreas-Kaninchenserum zeigten mit Pankreasextrakten anderer Spezies keine Kreuzreaktionen.

Alle diese Ergebnisse veranlaßten die Autoren zu dem Schluß, daß es sich bei den gefundenen Antikörpern um organ- und speziesspezifische Isoantikörper handeln müsse. Sowohl vor als auch nach der Immunisierung der Versuchstiere mit Pankreasextrakten konnten übrigens natürliche Antikörper entdeckt werden. Nach der Immunisierung war jedoch ein Titeranstieg zu bemerken, zudem konnten diese Antikörper sowohl durch spezifische Absorptions- und Hitzeinaktivierungseigenschaften als auch durch Gel-Präzipitation von den Pankreasisoantikörpern getrennt werden.

Ein Vergleich der elektrophoretischen Mobilität der 3 gefundenen Kaninchenpankreasantigene ergab, daß eines der Antigene leicht größere Beweglichkeit als menschliches Albumin, eins ähnliche Beweglichkeit, eins geringere als Humanalbumin hatte. Immunelektrophoretische Untersuchungen zeigten eine Zugehörigkeit der nachgewiesenen Pankreasisoantikörper zur  $\gamma$ -Globulinfraktion.

METZGAR (1964) führte Versuche an Rhesusaffen durch.

Nach Gabe von isologen Rhesusaffenpankreasextrakten entwickelten Versuchstiere pankreasspezifische Antikörper. In anschließenden Immunfluoreszenzuntersuchungen ließ sich mit Hilfe dieser Antikörper die Lokalisation der entsprechenden Antigene sehen:

Es zeigte sich diffuse zytoplasmatische Fluoreszenz der Azinocyten mit gelegentlich hell aufleuchtenden Flecken. Es fluoreszierten nicht alle Azinocyten, gewisse Lobuli zeigten stärkere Fluoreszenz als andere, die Inselzellen waren völlig frei. Bei stärkeren Verdünnungen der Antiseren war die Fluoreszenz auf die apikalen Teile der Azinocyten beschränkt, oft in granulärer Erscheinungsform.

Daher lag die Vermutung nahe, daß es sich bei den Antigenen um Enzymgranula handelt. Deshalb wurden Tests nach Sekretionsstimulation mit Pilocarpin gemacht. So konnten sowohl in den

Pankreassekreten von Kaninchen als auch von Affen Isoantigene entdeckt werden.

Wurden Kaninchen nach Pankreasteilresektion mit Extrakten aus ihrem eigenen Pankreas sensibilisiert bzw. geimpft, so rief dies keine Auto- oder Isoantikörper hervor. Am Pankreas traten in diesem Falle keine histologischen oder funktionellen Veränderungen auf.

Antiseren oder immunkompetente Zellen aus Lymphknoten oder Milz, die auf einem Empfänger mit den entsprechenden Isoantigenen passiv übertragen wurden, erzeugten dort keine histologischen oder funktionellen Änderungen am Pankreas.

Die entstandenen Isoantikörperseren der Affen zeigten mit Extrakten aus anderen Affenorganen oder mit Pankreasextrakten anderer Spezies keine Kreuzreaktionen. Darüber hinaus hinderte die Absorption mit anderen Affenorganen nicht die Reaktion der gewonnenen Antiseren am Pankreas.

Auch mit Extrakten aus 15 menschlichen Pankreaten gab es keine Kreuzreaktionen.

METZGAR (1964) sprach sich so auch in dieser Arbeit dafür aus, daß es sich bei den gefundenen Pankreasantikörpern um organ- und speziesspezifische Isoantikörper handeln müsse. Er bemerkte dazu aber, daß es nach Fehlversuchen mit Meerschweinchen, Mäusen, Ratten und Hunden ermutigend gewesen sei, bei Rhesusaffen überhaupt Isoantikörper zu finden. Eine experimentelle Erzeugung von Pankreaserkrankungen sei damit aber auch nach langen Immunisierungszeiten (bis zu 14 Monaten) nicht möglich gewesen.

Dafür führt er eine mögliche Erklärung an: er erläutert, daß die Pankreasisoantigene in den Azinocyten lägen und auch in das Ausführungsgangsystem und das Duodenum sezerniert würden. Dabei sei die Chance gering, mit zirkulierenden Antikörpern in Kontakt zu kommen. Es wird demnach angenommen, daß es sich bei den gefundenen Antigenen um Enzyme handeln müsse.

1964 immunisierte METZGAR Rhesusaffen mit Pankreasextrakten menschlicher Individuen, die den Blutgruppen O und B angehör-

ten. Die dadurch hervorgerufenen Antikörper reagierten im Komplexfixationstest gegen das zur Immunisierung verwendete Antigenextrakt und auch gegen Pankreasextrakt einiger anderer menschlicher Individuen, nicht aber aller untersuchter Individuen, so daß die Spezifität der Antikörper nahe.

Wegen der Erfahrungen im zuvor besprochenen Artikel wurden auch hier Tests mit Pankreassekret unternommen. Dieses wurde von sekretinstimulierten Patienten mittels Duodenalschläuchen abgenommen und mit Hilfe von Komplementfixationsverfahren auf Pankreasisoantigene untersucht.

Dabei zeigte sich, daß solche Antigene wohl vorhanden waren; die Reaktionen waren ähnlich wie mit Pankreasextrakten. Wegen der Lokalisation der Antigene in den Sekretionsanteilen der Azinozyten und in den Pankreassekreten ergab sich auch hier wieder die Folgerung, daß die diesmal bei menschlichen Pankreaten gefundenen Antigene wohl enzymatischen Charakter hätten. Bis dahin wäre aber noch kein direkter Nachweis einer Enzymaktivität der Antigen-Antikörperkomplexe möglich gewesen, auch eine Hemmung der Enzymaktivität durch Antikörper hätte nicht erzielt werden können. Daher meinte METZGAR (1964), daß eine Assoziation dieser Pankreasantigene mit Pankreaserkrankungen noch nicht möglich wäre.

In Kontrollversuchen zeigten übrigens normale oder präimmune Affenseren keine Reaktionen. Die erzeugten Antiseren boten keine Kreuzreaktion mit Rhesusaffenpankreas, reagierten aber wohl mit einigen Schimpansen-Pankreaten.

Als Konsens dieser 3 Arbeiten läßt sich wohl erkennen, daß im Experiment erzeugte Pankreasantikörper und gefundene Antigene meist organ- und speziesspezifische Antikörper bzw. Antigene waren. Selbst die Vermutung einer Individualspezifität könnte entstehen, angesichts der oben besprochenen Befunde, wo Antiseren teilweise nur gegen bestimmte Individuen der entsprechenden Spezies reagierten.

Ähnliche Untersuchungen wurden nicht nur mit Hilfe von Versuchstieren gemacht. Auch bei Pankreaserkrankungen des Menschen wurde nach immunologischen Mechanismen, die an diesen Erkrankungen beteiligt sein könnten, geforscht. Auch hierbei wurde nach möglichen Antikörpern und Antigenen des Pankreas gesucht und überprüft, in welchen Zusammenhängen diese mit Erkrankungen des Pankreas in der Humanmedizin stehen könnten.

So untersuchten THAL, MURRAY und EGNER (1959) mit Latex-Fixationstestverfahren die Seren von 17 Patienten mit chronischer Pankreatitis, 5 Patienten mit Pankreaskarzinomen sowie einem Patienten mit zystischer Fibrose, also insgesamt 23 Patienten mit chronischen Pankreaserkrankungen, außerdem die Seren von 209 teils gesunden Spendern, teils Patienten mit anderen Erkrankungen auf Präzipitine gegen bei Sektionen entnommenes menschliches Pankreas.

Dabei zeigten 16 der 17 Seren von Patienten mit chronischer Pankreatitis, 4 der 5 Seren der Pankreaskarzinom-Patienten und das Serum des Patienten mit zystischer Fibrose Präzipitine gegen homologes Pankreas.

Dagegen waren von den 209 Kontrollfällen lediglich 5 Seren positiv. Diese stammten von Patienten mit Lupus erythematodes, chronischer Glomerulonephritis, Colitis ulcerosa, chronischer Cholezystitis und Diabetes mellitus.

Da bis auf die beiden Seren der Patienten mit Lupus erythematodes und chronischer Glomerulonephritis alle positiven Seren nur mit menschlichen Pankreasantigenen reagierten, kamen die Autoren zu dem Schluß, daß es sich um organ- und speziesspezifische Antikörper handeln müsse, die z.B. als Ergebnis der Freisetzung eines pankreatischen Antigens ohne Rücksicht auf die Natur der zugrundeliegenden Erkrankung entstanden sein könnten.

Im Verlaufe dieser Arbeit ergab sich übrigens eine interessante Möglichkeit zu einer weiteren Studie der Spezifität der gefundenen Antikörper. Ein Patient mit chronischer Pankreatitis und einem hohen Antikörper-Titer gegen homologes

Pankreasantigen wurde distal pankreatektomiert, wodurch sein Serum gegen eigenes, also autologes Pankreasgewebe getestet werden konnte. Dabei fanden sich keine Präzipitine, obwohl Seren anderer chronischer Pankreatitiker Präzipitine gegen dieses Pankreasgewebe zeigten. Es lag demnach die Vermutung nahe, daß es sich bei den gefundenen Präzipitinen eher um Iso- als um Autoantikörper handeln könne. Diese Befunde würden sich demnach mit den oben angeführten in Tierversuchen gemachten Ergebnissen decken.

THAL, MURRAY und EGNER (1959) führen einige mögliche, von MCKAY et al. (1957) gegebene Erklärungen für dieses Phänomen an: So könnte im Gewebeextrakt oder im Serum des betreffenden Individuums eine inhibitorische Substanz vorhanden sein, die die Präzipitinreaktion in vitro blockiert, oder es könnten den Gewebeextrakten Determinanten fehlen, die für Reaktion mit Seren desselben Individuums nötig sind.

Wenn eine solche inhibitorische Substanz, die Antigen-Antikörper-Reaktionen im Organismus unterdrückt, tatsächlich existieren würde, so resümieren die Autoren, könnten Schwankungen in der Intensität dieser hemmenden Reaktion für Exazerbationen bei akuten und chronischen Pankreatitiden eine Rolle spielen.

Dieselben Autoren stellten 1960 fest, daß verschiedene Versuchstiere experimentelle Pankreatitiden entwickelten und pankreasspezifische Antikörper bildeten, die zwar mit Pankreas von anderen Individuen der gleichen Spezies, nicht aber mit eigenem Pankreas reagierten. Ähnliche Antikörper konnten auch bei Patienten mit chronischen Pankreaserkrankungen gefunden werden.

In weiteren klinischen Studien wurden mittels Ouchterlony Gel-Diffusionstests pankreasspezifische Antikörper in Seren von Patienten nachgewiesen, die nur die chronische Zerstörung von Azinusgewebe gemeinsam hatten.

Während dieser Untersuchungen mußten 4 Patienten mit chronisch rezidivierender Pankreatitis, die alle zirkulierende

Antikörper gegen homologe Pankreasantigene hatten, am Pankreas operiert werden, so daß ihre Seren gegen eigenes Pankreas getestet werden konnten. 3 der 4 Seren zeigten in Übereinstimmung mit den bisher geschilderten Erfahrungen keine Reaktion gegen das autologe Pankreas, während ein Serum, von einem 31-jährigen Patienten ohne Alkohol-Anamnese stammend, deutliche Präzipitatbanden ergab, die die Autoren als klaren Beweis für die Anwesenheit von Pankreasautoantikörpern ansahen. Das Serum des betreffenden Patienten hatte präoperativ auch beständig positive Präzipitintest $\ddot{u}$  gegen homologes Pankreas gezeigt. Der Patient hatte seine erste Schmerzattacke 5 Jahre zuvor, also mit 26 Jahren erlitten, zum Schluß waren die Schmerzen beständig gewesen und hatten sich nach Mahlzeiten noch verstärkt.

So vertreten die Verfasser die Ansicht, daß der gezeigte Fall, bei dem erstmals bei einem Menschen Antikörper gegen sein eigenes Pankreasgewebe nachgewiesen wurden, zumindest gewisse Spekulationen zulassen könnte, wonach die fortschreitende Zerstörung des Organs bei chronisch rezidivierender Pankreatitis in manchen Fällen auf Antigen-Antikörper Interaktionen zurückzuführen wäre.

1960 konnten MURRAY und THAL bei 30 von 32 Patienten mit gesicherter chronischer Pankreatitis zirkulierende Antikörper gegen bei Autopsie oder Operation gewonnenes homologes Pankreasgewebe nachweisen. Ebenso zeigten 9 von 11 Patienten mit Pankreaskarzinom (wahrscheinlich durch gleichzeitige Pankreatitis), weiterhin 6 von 7 Patienten mit zystischer Fibrose, alle 6 Patienten mit Verdacht auf chronische Pankreatitis, und schließlich alle 4 Patienten mit Verdacht auf Pankreaskarzinom Antikörper gegen Pankreasantigene in ihren Seren. Dabei ergaben die Antikörper der Patienten mit zystischer Fibrose andere Banden und schienen mit den bei chronischer Pankreatitis gefundenen Präzipitinen nicht identisch zu sein.

Die Seren aller gesunden Kontrollpersonen waren negativ, von 228 Seren von gemischten Krankenhauspatienten zeigten 10 posi-

tive Reaktionen mit Pankreas. Diese stammten aber von Patienten mit Erkrankungen wie Colitis ulcerosa, Lupus erythematoses und anderen, bei denen Pankreasbeteiligungen, etwa Begleitpankreatitiden oft nicht ausgeschlossen werden konnten. Da eins dieser positiven Kontrollseren auch von einem Diabetiker kam, wurden weitere 61 Diabetikerseren untersucht. Davon waren 7 positiv. Die betreffenden Patienten hatten zuvor über mindestens mehr als 1 Jahr Insulin bekommen.

Die Autoren resümieren über ihre in den 3 genannten Arbeiten gefundenen Ergebnisse:

Da die Mehrzahl der Seren von Patienten mit chronischer Pankreatitis oder Pankreaskarzinom zirkulierende pankreasspezifische Antikörper enthielten, ließe die Anwesenheit solcher Präzipitine in Abwesenheit von Antikörpern gegen andere Gewebe an das Vorliegen einer solchen Erkrankung denken. Obwohl es sich bei den gefundenen Immunglobulinen meist um Isoantikörper gehandelt hatte, konnten erstmals auch Pankreas-Autoantikörper nachgewiesen werden.

Gesunde Vergleichspersonen hatten keine solchen Antikörper, jedoch kamen bei einigen Patienten mit den genannten anderen Erkrankungen einige wenige positive Reaktionen vor.

BANK, NAVIS, PETERSEN, DOWDLE und MARKS berichten 1975 über Untersuchungen mit Seren von 40 Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis, bei denen wie in der vorliegenden Arbeit die Konzentrationen der Immunglobulin-Klassen A, G und M gemessen wurden.

Im Vergleich zu einer Kontrollgruppe fand sich dabei eine signifikante Erhöhung des Mittelwertes bei IgA und IgG. IgA war bei 50 %, IgG bei 25 % der Patienten erhöht. Die erhöhten Immunglobulinspiegel schienen durchaus in Beziehung mit den Pankreaserkrankungen zu stehen.

Die Pathogenese und die Bedeutung dieser Immunglobulinerhöhungen seien jedoch noch unsicher, so daß die Autoren schreiben: "Obwohl pankreatische Isoantikörper bei chronischer Pankreatitis

von MURRAY und THAL schon 1960 nachgewiesen wurden, gibt es immer noch wenig Grund anzunehmen, daß Autoimmunität irgendeine größere Rolle in der Pathogenese der Erkrankung spielt."

Sie räumen jedoch ein, daß die hohen Immunglobulin-Spiegel mit autoimmunologischen Prozessen in Beziehung gesetzt werden könnten, die sich im Pankreas abspielen, nachdem eine Pankreatitis erst einmal entstanden ist. Solche Prozesse könnten zur progressiven Natur einer chronischen Pankreatitis beitragen, die auch dann noch bestehen bleibt, wenn Noxen wie etwa gesteigerter Alkohol-Konsum, die ursprünglich zum Ausbruch der Krankheit geführt hatten, ausgeschaltet wurden.

Zu einer ähnlichen Schlußfolgerung kommen SOTO, AUFSSES und DREILING (1977).

Sie untersuchten in erster Linie die Spiegel von IgA, IgM und IgG im exkretorischen Pankreassekret von 15 Patienten mit chronischer Pankreatitis bei Alkoholanamnese im Vergleich zu einem Kollektiv normaler Patienten. Dabei konnten zwischen den beiden Gruppen keine wesentlichen Unterschiede festgestellt werden.

Bei einer genaueren Betrachtung der Ergebnisse zeigte sich jedoch, daß bei Patienten mit chronischer Pankreatitis, die trotz Alkoholenthaltensamkeit eine weitere Progressivität ihrer Erkrankung erfuhren, besonders hohe Spiegel von IgA und IgG im Pankreassekret zu finden waren. Bei einigen dieser Patienten konnten auch zirkulierende, ausschließlich gegen Pankreasgewebe gerichtete, also organspezifische Immunglobuline nachgewiesen werden. Diese Patienten zeigten die höchsten Spiegel von IgG im exkretorischen Pankreassekret, sowohl im Vergleich zu den übrigen Pankreatitispatienten als auch zur Gruppe der gesunden Kontrollpersonen.

Daher nehmen auch diese Autoren an, daß eine ursprünglich durch Alkoholabusus entstandene chronische Pankreatitis trotz Absetzen der Noxe durch immunologische Mechanismen progressiv bleiben kann. Sie machen eine immunologische Sensibilisierung

etwa im Sinne einer im Pankreas stattfindenden Schwartzman-Reaktion dafür verantwortlich.

Wie in der oben geschilderten Arbeit von BANK et al. (1973) suchen auch LENDRUM und WALKER (1975) mit Immunfluoreszenz-Methoden nach Pankreasantikörpern und deren Reaktionen mit menschlichem Pankreas.

Sie betrieben ihre Studie mit Seren von verschiedenen Pankreaspatienten (61 mit akuter Pankreatitis, 12 mit rezidivierender Pankreatitis, 11 mit chronischer Pankreatitis, 1 mit idiopathischer Haemochromatose, 2 mit exokriner Pankreasinsuffizienz, 13 mit Pankreaskarzinomen) und von Kontrollpersonen (12 gesunde Erwachsene, 80 Krankenhauspatienten mit verschiedenen Erkrankungen, 78 "antenatal subjects") und mit menschlichem Pankreas als Antigensubstrat. Nachdem bei vorhergehenden Untersuchungen falsch positive Ergebnisse bei blutgruppenungleichen Seren und Geweben gemacht wurden, wurden die angeführten Versuche alle auf Pankreaten gemacht, die Individuen der Blutgruppe O angehört hatten. In der vorliegenden Arbeit wurden solche möglichen falsch positiven Ergebnisse durch Verwendung von Gewebe und Serum der gleichen Blutgruppe bzw. bei Ungleichheit in 4 Fällen von Gewebe der Blutgruppe O ebenfalls vermieden.

Gute, reproduzierbare positive Ergebnisse in Form von grob granulärer Immunfluoreszenz im Azinocytenzytoplasma konnten LENDRUM und WALKER (1975) dabei unter den Seren der Patienten mit verschiedenen Pankreaserkrankungen nur bei 21 der 61 Patienten mit akuter Pankreatitis, aber bei keinem der Patienten mit anderen Pankreaserkrankungen erzielen. Dies steht etwas im Widerspruch zu den von uns und etwa von THAL und MURRAY (1959, 1960) gemachten Erfahrungen.

Vorhergehende Absorptionsexperimente ließen vermuten, daß das Antigen in der mikrosomalen Fraktion der Pankreashomogenate sitzen und organspezifisch sein könnte.

Die nachgewiesenen Ig-Klassen waren bei den 21 positiven Pankreatitisseren einmal IgG, 7mal IgA und 13mal diese beiden

zugleich, bei 4 positiven Kontrollseren handelte es sich einmal um IgM- sowie 3mal um IgA-Antikörper. Bei den 21 Patienten mit akuter Pankreatitis, deren Seren positiv waren, konnten keine gemeinsamen strukturellen oder andere Faktoren festgestellt werden. Die Autoren vermuten, daß die beschriebenen Antikörper zu einer Untergruppe der Pankreatitis mit besonders langer Krankheitsdauer führen könnten. Bei 6 der 21 positiven Seren konnten Antikörper nicht nachgewiesen werden, als diese Seren erstmals 11 oder weniger Tage nach Krankheitsbeginn abgenommen wurden, 4 Seren zeigten einen Titeranstieg in der zweiten Woche, bei einem Patienten konnten Pankreasantikörper 10 Monate lang nachgewiesen werden, während sie bei 3 anderen Patienten nach 6 und 7 Wochen bzw. 8 Monaten nach Krankheitsbeginn verschwunden waren.

Wegen dieser Gegebenheiten sehen LENDRUM und WALKER (1975) eine starke Assoziation von Pankreasantikörpern zur akuten Pankreatitis. Das Fehlen von Antikörpern in der frühen Phase der akuten Pankreatitis versuchen sie mit einem hohen Spiegel von zirkulierenden Enzymen zu erklären, der zu einer Zerstörung der Immunglobuline führen könnte, andererseits beleuchten sie die Möglichkeit, daß die Antikörper nur als Folge des Pankreasgewebsschadens entstehen. Das eigentliche Antigen bleibt unklar. Die grob zytoplasmatische Natur der Immunfluoreszenz, die ja auch bei uns häufig gefunden wurde, könnte für Zymogen-Granula als Antigene sprechen, was auch in verschiedenen Tierversuchen bestätigt wurde. Da aber eine vorherige Absorption der positiven Seren mit Zymogen-Granula Fraktionen des menschlichen Pankreas die Immunfluoreszenz nicht beeinträchtigt hatte, wird diese Annahme von LENDRUM und WALKER eher als unwahrscheinlich bezeichnet.

Bei Kontrollreaktionen auf anderen Organen zeigten 10 der 21 positiven Pankreatitisseren einige Reaktionen, unter anderem konnten ähnlich wie in einigen Fällen unserer Studie auch antinukleäre Antikörper gefunden werden. Es zeigte sich aber keine charakteristische und konsistente Färbung.

In oben besprochenen Tierversuchen (THAL et al., 1959; METZGAR 1964a und b) wurden bei Tieren durch Immunisierung mit Pankreashomogenisaten Pankreasantikörper hervorgerufen, die als Isoantikörper angesehen wurden. Die entsprechenden Isoantigene wurden etwa bei Kaninchen ähnlich wie bei menschlichen Pankreaten in den apikalen, also sekretorischen Anteilen der Azinozyten lokalisiert. LENDRUM und WALKER (1975) sind jedoch der Meinung, daß es sich bei den in dieser Arbeit bei den Patienten mit akuter Pankreatitis gefundenen Antikörpern schwerlich um Isoantikörper handeln könne, da diese Seren mit allen untersuchten Pankreaten reagiert hätten. Demnach bleibt nach LENDRUM und WALKER (1975) eine Beziehung zwischen den in den genannten tiereperimentellen Arbeiten gefundenen Isoantikörpern und den in ihrer eigenen Studie beschriebenen Immunglobulinen im Dunkeln.

DANI et al. (1974) befassen sich mit Immunglobulinen in den Seren von Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis. Im Gegensatz zu den oben angeführten Ergebnissen von BANK et al. (1973), die bei solchen Patienten Erhöhungen von IgA und IgG, sowie von LENDRUM und WALKER (1975), deren positive Seren von Patienten mit akuter Pankreatitis mit IgA und IgG reagierten, zeigten in der Arbeit von DANI et al. die Seren der 12 untersuchten Patienten signifikante Erhöhungen von IgA und IgM, ferner wurden in 11 der 12 Seren Immunkomplexe entdeckt.

Im peripheren Blut der Patienten wurden normale Zahlen von B-Lymphozyten aber ein signifikanter Abfall der T-Lymphozyten entdeckt. Die in 11 Seren gefundenen Immunkomplexe interpretieren die Autoren dahingehend, daß ein durch vom Komplementsystem aktivierte Substanzen vermittelter Prozeß in die pankreatische Entzündungsreaktion verwickelt sein könnte. Dabei weisen sie darauf hin, daß eine Verbindung von Gefäßschaden und chronischer Pankreatitis schon in einer Arbeit von SAMBIN, LEVRAT und GIRARD (1971) gezeigt wurde.

Je bis dahin unveröffentlichten Studien haben DANI et al. (1974)

als gemeinsames histologisches Merkmal in den Pankreaten von Personen mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis Vaskulitiden entdeckt, deren Ursache nach ihrer Meinung auch auf eine durch Immunkomplexe vermittelte Hypersensibilität zurückzuführen sein könnte.

Für die Abnahme der T-Lymphozyten im peripheren Blut der Patienten führen die Autoren verschiedene Möglichkeiten an. So nennen sie mangelnde Produktion, gesteigerte Zerstörung oder Absonderung an den Ort einer aktiven Entzündung als mögliche Ursachen. Da man bei der letztgenannten Möglichkeit auch an eine Beteiligung der T-Lymphozyten am pankreatitischen Geschehen denken könnte, weisen sie ferner darauf hin, daß die Hypothese einer Kooperation von B- und T-Lymphozyten bei zytotoxischen Aktivitäten durch einige Autoren unterstützt wird, von denen sie etwa ALLISON, DENNAN und BARNES (1971) oder MACLENNAN und HARDING (1970) nennen.

Aufgrund der Ergebnisse glauben DANI et al. an eine immunologische Beteiligung bei der chronisch kalzifizierenden Pankreatitis. In Übereinstimmung mit BANK et al. (1973) und SOTO et al. (1977) sind sie der Ansicht, daß diese immunologische Beteiligung insbesondere zur Erklärung der Beständigkeit und der progressiven Natur der Erkrankung beitragen könne. Sie räumen jedoch ein, daß dieser Schluß eine Hypothese bleiben müsse, da ein Gewebsschaden per se zu immunologischen Abnormalitäten führen könne.

SAMBIN, LEVRAT und GIRARD (1971) interessierte eine mögliche Beteiligung von atherosklerotischen Gefäßveränderungen am Verlauf der chronischen Pankreatitis. Sie fanden bei 29 von 560 untersuchten Fällen von gesicherter chronischer Pankreangiopathien in Form von Atheroskleroseerscheinungen an Koronar-, Becken- und Beinarterien. Bei den Pankreaspatienten traten diese Erscheinungen früher und häufiger als im normalen Bevölkerungskollektiv und vor allem auch in Abwesenheit prädisponierender Faktoren auf, so daß die Autoren Angiopathien nicht

nur als chronische Pankreatitiden begleitende Erkrankungen, sondern auch als einen ursächlichen Faktor für die Entstehung einer chronischen Pankreatitis betrachten.

SCHWARZMANN und JULIEN (1960) suchten mit der Technik der Diffusion-Beschleunigung in Gelose nach DOINATT und ROITT in den Seren von 74 Patienten, von denen 36 gesichert an pankreatischen Erkrankungen litten, nach Anti-Pankreas Antikörpern. Als Antigen fungierte dabei wie in unseren Untersuchungen frisch post mortem entnommenes, homologes Pankreas, das makroskopisch ohne pathologischen Befund erschien. Bei 29 der 36 Pankreaspatienten (in 17 von 21 Fällen chronischer Pankreatitis, in 8 von 10 Fällen chronisch kalzifizierender Pankreatitis, in 3 von 4 Fällen von Pankreaskarzinomen und in einem Fall von Hyperinsulinismus), das heißt, bei 80,6 % der Pankreaspatienten konnten Antikörper gefunden werden. Läßt man die Fälle von Pankreaskarzinomen und Hyperinsulinismus aus der Berechnung, so ergeben sich für die 31 Pankreatitis-Fälle 25 antikörper-positive Seren, also ebenfalls etwa 80 %.

Von den übrigen 38 untersuchten Patienten litten 17 an Lebererkrankungen, davon 15 an solchen mit Pfortaderstauung, 21 an verschiedenen anderen Erkrankungen. Die Patienten mit Lebererkrankungen hatten 13 ~~pankreasantikörper-positive Seren~~, d.h. 76,5 %, Von den 21 Patienten mit diversen Erkrankungen war nur ein Serum positiv, nämlich das eines Hodgkin-Patienten mit hauptsächlich hepatosplenischen Manifestationen. Schließt man die leberkranken Patienten aus, ergibt sich in der Kontrollgruppe ein Anteil von 4,7 % positiver Seren; diese Zahl liegt nahe an den von THAI, MURRAY und EGNER (1959) gefundenen 3,1 %.

Die hohen positiven Ergebnisse bei den Lebererkrankungen, die fast die Zahl der antikörperpositiven Seren bei den Pankreatitis-Fällen erreichen, erklären die Autoren damit, daß bei Lebererkrankungen mit Pfortaderstau (in der Studie meist Alkohol-Zirrhosen) eine Affektion des Pankreas, die keine klinisch faßbaren Symptome macht, nicht ausgeschlossen werden kann.

SCHWARZMANN und JULIEN (1960) resümieren, daß die Suche nach pankreasspezifischen Antikörpern in der Klinik für die Diagnosestellung "Pankreaserkrankung" von wichtiger Bedeutung sein könnte. Untersuchungen der Seren gegen Antigenpräparationen aus anderen Organen liegen nicht vor. Es wird demnach eine Organspezifität der gefundenen Antikörper vorausgesetzt.

Bisher wurde vor allem über mögliche Beteiligung von humoralen Antikörpern, also Auswirkungen des B-Zellsystems an pankreatischen Erkrankungen gesprochen. Über die Rolle zellvermittelter Immunreaktionen, also über Beteiligungen des T-Zellsystems und damit der T-Lymphozyten wurden erste Untersuchungen von VELBRI, NUTT und KASESALU (1973) angestellt.

Sie studierten eine Sensibilisierung der Lymphozyten gegen Pankreasantigene bei Pankreatitis und Diabetes mellitus, gleichzeitig bestimmten sie jedoch auch zirkulierende Antikörper gegen Pankreasgewebe.

Dabei wurden 98 Patienten mit verschiedenen Pankreatitiden 123mal untersucht (25 anfangs im akuten Stadium und ein zweites Mal nach ein bis zwei Jahren in der Remissionsphase). Es handelte sich um 18 akute Pankreatitiden, 26 chronische Pankreatitiden mit Exazerbation sowie 69 chronische Pankreatitiden in der Remissionsphase (akuter Schub vor ein bis neun Jahren).

Zusätzlich wurden 137 Patienten mit Diabetes mellitus untersucht, davon waren 62 insulinpflichtig. Als Kontrollgruppe dienten 56 Gesunde und 80 Patienten mit anderen Erkrankungen des Magen-Darmtraktes. Die Überempfindlichkeit vom Spättyp wurde mittels Blastentransformationstest der Lymphozyten untersucht, die Bestimmungen der zirkulierenden Antikörper und deren Spezifitätsproben erfolgten mittels Hämagglutinations- und Komplementkonsumptionsreaktionen sowie Präzipitationen im Agargel. Als Antigene dienten handelsübliche Insulin- und Gewebsantigene von der Blutgruppe O zugehörigen, gesunden Menschen, die maximal 12 Stunden vor Entnahme tödlich verunglückt waren. Dabei ergab sich bei den Pankreatitiskranken Folgendes:

62 % zeigten eine Sensibilisierung der T-Lymphozyten gegen Pankreasgewebe, ferner hatten 60 % zirkulierende Pankreasantikörper. Die Sensibilisierung der Lymphozyten war vor allem in der Remissionsphase der chronischen Pankreatitis, im inaktiven Stadium und beim Fehlen zirkulierender Antikörper zu beobachten. Bei den zweiten Untersuchungen der oben genannten 25 Patienten hatten 17 während der ganzen Untersuchungsperiode (ein Jahr) sensibilisierte Lymphozyten, 14 davon auch ständige Beschwerden. Diese Befunde weisen nach Meinung der Autoren deutlich auf eine mögliche Beteiligung immunpathologischer Faktoren in der Pathogenese einer chronischen Pankreatitis hin.

Zirkulierende Antikörper waren vor allem bei aktiven Entzündungsprozessen zu finden. Die Frage erhebt sich auch hier, ob die gefundenen Antikörper nur eine Antwort des Organismus sind, um sich des geschädigten Gewebes zu entledigen, oder ob diese Antikörper auch aggressive, krankheitsauslösende Eigenschaften haben. Das Vorhandensein sensibilisierter Lymphozyten bei der Mehrzahl der Kranken in der Remissionsphase und das lange Bestehenbleiben dieser Sensibilisierung zeigt nach Aussage der Autoren die wichtige Rolle der verzögerten Überempfindlichkeit bei der Progredienz der Erkrankung und bei der Entstehung von Rezidiven.

Bei den Diabeteskranken zeigte sich bei latentem Diabetes keine intensive Blastentransformation der Lymphozyten gegen Insulin. Am häufigsten war sie bei Kranken mit leichtem Diabetes und insulinpflichtigen Diabetikern zu beobachten. Bei Insulintherapie ist sie wahrscheinlich auf Insulininjektionen zurückzuführen, während bei leichten Formen ohne Insulintherapie die Sensibilisierung anscheinend gegen endogenes Insulin gerichtet war.

Das in dieser Arbeit gefundene Auftreten zirkulierender Pankreasantikörper bei akutem Pankreatitisgeschehen deckt sich wohl vor allem mit den von LENDRUM und WALKER (1975) gemachten Erfahrungen, die oben ausführlich beschrieben wurden.

Ebenfalls mit Immunreaktionen vom verzögerten Typ befassen sich SCHÜTT, FRIEMEL, SCHULZE und ZUBAIDI (1975). Sie versuchen, zur Erleichterung der Diagnosestellung einer chronischen Pankreatitis einen Lymphozyten-Transformationstest zu entwickeln. In den schon besprochenen Studien von ROSE, METZGAR und WITBSKY (1960) sowie in einer Arbeit von FRIEMEL, BROCK, SCHÜTT, ZASTROW und VELBRI (1975) wurden verschiedene pankreasspezifische Proteine entdeckt, so daß die Entwicklung eines solchen Tests sinnvoll erschien.

Demzufolge wurden die Seren von 47 Personen getestet, die an chronischer Pankreatitis, akuten Schüben einer chronischen Pankreatitis, akuter Pankreatitis, Hepatitis, Leberzirrhose, Colitis ulcerosa, Diabetes mellitus und Gallenwegserkrankungen litten. Auch gesunde Versuchspersonen befanden sich darunter. Mit diesen Seren wurde ein in vitro-Test zur Entdeckung einer spezifischen Sensibilisierung von Lymphozyten gegen menschliches Pankreasantigen gemacht. Sollten die Lymphozyten während einer Pankreaserkrankung in vivo sensibilisiert worden sein, so würden sie während dieses Tests zu Blasten umgeformt. Das Ausmaß dieser Transformation konnte anhand der DNA-Syntheserate bestimmt werden. Im Gegensatz zu VELBRI, NUTT und KASESALU (1973), die nennenswerte Transformationen zwar vorwiegend in den Remissionsphasen, jedoch zum geringen Teil auch bei akuten Phasen gefunden hatten, fanden die Autoren bei akuten Pankreatitisformen, ebenso wie bei den Seren aller anderen Versuchspersonen außer der Patienten mit chronischer Pankreatitis keine Transformation.

Die negativen Ergebnisse bei akuten Pankreatitiden und akuten Schüben erklären die Autoren damit, daß sensibilisierte Lymphozyten bereits in vivo hätten stimuliert werden können, so daß eine weitere in vitro-Stimulation mit dem Antigen nicht möglich war. Sie halten die Ergebnisse für einen deutlichen Hinweis auf eine Beteiligung des T-Zellsystems am Verlauf der chronischen Pankreatitis und damit den beschriebenen Transformationstest für eine sinnvolle Hilfe bei der Diagnosestellung einer chronischen Pankreatitis.

FRIEMEL et al. (1975) konnten die Existenz von verschiedenen organspezifischen Pankreasproteinen sowie Antigene, Antikörper und zelluläre Immunität bei verschiedenen Formen der Pankreatitis nachweisen. Auch hier wurden zirkulierende Pankreasantigene vorwiegend bei akuten Formen der Pankreatitis beobachtet, während eine zelluläre Immunität eher mit chronischen Verlaufsformen zu assoziieren war.

Dieses Kapitel zusammenfassend seien folgende Faktoren nochmals hervorgehoben:

In Bezug auf pathogene Immunreaktionen am Pankreas wird auf die Beteiligung des Serumkomplementsystems an der Entstehung initialer Schäden am Beginn einer Pankreasnekrose hingewiesen. Es wurden immunologische Mechanismen aufgezeigt, die zur Aktivierung des Komplements führen könnten. NIZZE (1978) machte für Azinozytennekrose im Verlauf experimenteller Pankreatitiden bei Mäusen Typ II- und Typ III-Immunreaktionen verantwortlich, durch die das Komplementsystem aktiviert wird. Andererseits wird bei SEELIG und SEELIG (1975, 1976) auch an die Möglichkeit einer Komplementaktivierung ohne immunologische Reaktionen erinnert.

Als mögliche Angriffspunkte an pankreatischen Strukturen werden für die Antikörper die Membranen der Azinozyten, Gefäßwände und auch Enzyme genannt. Durch initiale Schädigungen an diesen Strukturen, die durch Immunreaktionen vermittelt werden, kann es beispielsweise zu Störungen der Membranfunktion der Azinozyten oder der Enzymsynthese und -sekretion kommen. Diese anfänglichen Schäden könnten auch ohne autogestive Beteiligung von Pankreasenzymen etwa durch die zytotoxische Wirkung des Komplements zu fulminanten Pankreatitiden und Pankreasnekrosen führen.

Von verschiedenen Autoren wurden Pankreasantikörper entdeckt und als organ- und speziesspezifische Isoantikörper bezeichnet. Immunfluoreszenz-Studien von NIZZE (1978) ergaben peri- und intraazinäre Immunglobulin-Ansammlungen sowie Fluoreszenz in mit Sekret gefüllten Azinarlumen und an Azinozytenmembranen

bei Verwendung von Antiseren gegen gereinigte Pankreasenzyme. Auch FREYTAG und KLÖPFEL (1969) kommen bei Anwendung von Antiseren gegen Pankreasextrakte zu ähnlichen Ergebnissen, so daß es wahrscheinlich ist, daß es sich bei den antigenen Strukturen auch um Enzyme handeln kann. Auch wir beobachteten ja häufig peri- und intraazinäre Fluoreszenz, sowie Immunglobulindepots an Azinozytenaußenseiten und in granulärer Form im Zytoplasma der Azinuszellen.

Bei Patienten mit chronischen Pankreatitiden wurden häufig Antikörper gegen homologe Pankreaten festgestellt, in einem Falle konnten THAL, MURRAY und EGNER (1959, 1960) aber auch echte Autoantikörper nachweisen.

Erhöhte IgA- und IgG-Spiegel fanden BANK et al. (1973) im Serum von 50 bzw. 25 % ihrer Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis. Bei SOTO et al. (1977) wiesen Patienten mit hartnäckigen, alkoholbedingten Pankreatitiden, die auch nach Absetzen des Alkohols progressiv blieben, in ihren Pankreassekreten sehr hohe IgA- und IgG-Spiegel auf. Beide Autoren nahmen daher an, daß Immunmechanismen und Antikörper vor allem bei der Aufrechterhaltung einer chronischen Pankreatitis eine Rolle spielen könnten.

Andererseits fanden LENDRUM und WALKER (1975) eher eine Assoziation von Antikörpern gegen homologes Pankreas mit akuten Pankreatitiden. Sie entdeckten in etwa einem Drittel der untersuchten Fälle von akuter Pankreatitis eine granuläre zytoplasmatische Immunfluoreszenz in Azinozyten, als sie die Seren der betreffenden Patienten auf homologen Pankreaten untersuchten. Da eine vorherige Absorption der Seren mit Pankreasenzymen keine Veränderung der Immunfluoreszenz brachte, halten sie es eher für unwahrscheinlich, daß Enzyme als Antigene des Pankreas in Betracht kämen. In den Seren von Patienten mit chronischer Pankreatitis konnten sie keine Antikörper entdecken.

Im Gegensatz dazu fanden SCHWARZMANN und JULIEN (1960) bei 80 % aller Patienten mit chronischer und chronisch kalzifizierender Pankreatitis Pankreasantikörper. In Studien von

VELBRI, NUTT und KATESALU (1973) haben 62 % der Patienten mit chronischer Pankreatitis gegen Pankreas sensibilisierte T-Lymphozyten, 60 % weisen zirkulierende Antikörper auf. Die Antikörper treten dabei ähnlich wie bei LENDRUM und WALKER (1975) in akuten Stadien auf, während die Lymphozytensensibilisierung eher in Remissionsphasen, in inaktiven Stadien und beim Fehlen zirkulierender Antikörper imponiert. Ähnliche Beobachtungen machten auch FRIEMEL, BROCK et al. (1975).

Es gibt also zahlreiche Hinweise auf immunologische Beteiligungen bei der Pathogenese von Pankreatitiden. Ob immunologische Reaktionen dabei als kausale Faktoren oder vielleicht nur als Begleit- oder Folgeerscheinungen zu betrachten sind, kann wohl aber noch nicht hinreichend geklärt werden.

#### 5.4. Diskussion der eigenen Untersuchungsergebnisse

In unserer Untersuchung wurden die Immunglobulin-Spiegel in den Seren von Patienten mit chronischen Pankreatitiden sowie eventuelle Bindungsfähigkeiten dieser Seren bzw. in ihnen enthaltener Immunglobuline an normales homologes Pankreasgewebe im Hinblick auf eine immunpathologische Beteiligung im Verlaufe chronischer Pankreatitiden geprüft.

Dazu wurden in den Seren von 27 Patienten mit chronischer Pankreatitis sowie bei einer Kontrollgruppe von 5 Patienten ohne Pankreaserkrankung die Spiegel von IgA, IgG und IgM bestimmt; anschließend wurden alle Seren auf Gefrierschnitten von Pankreas und zur Kontrolle der Organspezifität etwa reagierender Antikörper auf Schnitten von Herz, Skelettmuskel und Leber mittels der indirekten Immunfluoreszenz auf ihre Bindungsfähigkeit untersucht. Dabei wurden zur Vermeidung falsch positiver Reaktionen Organe von Individuen der gleichen Blutgruppe wie die entsprechenden Seren bzw. der Blutgruppe 0 verwendet.

##### 5.4.1. Immunglobulinspiegel in Untersuchungs- und Kontrollgruppe

Zur Übersicht sind in den Tabellen 1, 2 und 6 die Daten der Patienten und Aussagen über das Ausmaß etwaiger Erhöhungen oder Erniedrigungen der Immunglobuline enthalten. Des Weiteren bringt Tab. 9 einen Überblick über die Ergebnisse der Lasernephelometrie.

Unsere Untersuchungsgruppe aus 27 Patienten mit chronischer Pankreatitis setzte sich aus 8 Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis, 14 Patienten mit chronisch (rezidivierender) Pankreatitis und 5 Patienten mit akuten Exazerba-

tionen chronischer Pankreatitiden zusammen. In dieser Untersuchungsgruppe ergaben sich bei 9 Seren, also bei  $1/3$  der Patienten Erhöhungen von Immunglobulinen, wobei am häufigsten IgA isoliert erhöht war, nämlich bei 4 Seren (3 von Patienten mit chronisch (rezidivierenden) Pankreatitiden, eins von einem Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis). Weiterhin war IgA einmal zusammen mit IgG erhöht (chronisch rezidivierende Pankreatitis).

Sodann fanden sich 2mal isolierte IgM-Erhöhungen (chronische Pankreatitis, akuter Schub einer chronisch rezidivierenden Pankreatitis), in einem Serum war IgM zusammen mit IgG erhöht (chronische Pankreatitis mit Pseudozyste).

IgG war nur in einem Fall als einziges Immunglobulin erhöht (chronisch rezidivierende Pankreatitis).

Bei einem Patienten mit einem akuten Schub einer chronisch rezidivierenden Pankreatitis ergab sich eine Abweichung nach unten. Dieser Patient hatte bei normalen IgA- und IgG-Spiegeln einen erniedrigten IgM-Wert.

Die restlichen 17 Seren der Untersuchungsgruppe (7 von 8 chronisch kalzifizierenden Pankreatitiden, 7 von 14 chronisch (rezidivierenden) Pankreatitiden und 3 von 5 akuten Schüben) waren normal (s. Tab. 9).

In der Kontrollgruppe, also bei den Patienten ohne chronische Pankreatitis war in einem Fall (Choledocholithiasis) eine leichte IgA-Erhöhung zu finden, bei einer anderen Patientin mit Rektumkarzinom waren IgA und IgM leicht erniedrigt, die 3 restlichen Seren wiesen normale Ig-Spiegel auf.

Bei LENDRON und WALKER (1975) oder bei VELDP, NUTT und KASESALU (1975) erschien eine besonders starke Assoziation zwischen zirkulierenden Pankreasantikörpern und akuten Pankreatitiden, während bei inaktiven Stadien und bei chronischen Verläufen eher eine Lymphozytensensibilisierung gegen Pankreas zu beobachten war. Diese Autoren untersuchten die Seren ihrer Patienten allerdings nicht quantitativ auf Antikörper, sondern

überprüften, ob sie an homologem Pankreasgewebe Reaktionen zeigten. Insofern wird auf diese Arbeiten bei der Besprechung unserer Immunfluoreszenz-Ergebnisse zurückzukommen sein.

LENDRUM und WALKER (1975) jedenfalls fanden bei keinem der untersuchten Seren von Patienten mit chronischen Pankreatitiden Antikörper gegen Pankreasgewebe, während sie bei 21 von 61 überprüften Seren von Patienten mit akuter Pankreatitis Bindungsfähigkeit an homologem Pankreas nachweisen konnten. Die dabei gefundenen Antikörper waren in 7 Fällen der IgA-Klasse zugehörig, einmal handelte es sich um IgG, 13mal traten diese beiden zugleich auf.

Andererseits fanden BANK et al. (1973) bei Patienten mit chronisch kalzifizierenden Pankreatitiden in 50 % der Fälle erhöhte IgA-Spiegel im Serum, bei 25 % der Patienten war IgG erhöht. Bei SOTO (1977) wiesen Patienten mit besonders hartnäckigen chronischen Pankreatitiden hohe IgA- und IgG-Spiegel in ihren Pankreassekreten auf. SCHWARZMANN und JULIEN (1960) fanden bei 80 % aller Patienten mit chronischer Pankreatitis und chronisch kalzifizierender Pankreatitis Pankreasantikörper. Auf ähnliche Zahlen kommen THAL, MURRAY und EGNER (1959, 1960) bei Patienten mit chronischen Pankreatitiden. DANI et al. (1974) weisen bei 11 von 12 Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis in den Seren signifikante Erhöhungen von IgA und IgM nach.

Es wurden also einerseits eher eine Assoziation von zirkulierenden Pankreasantikörpern mit akuten Pankreatitiden und keine Antikörper bei chronischen Formen gefunden, andererseits wurden auch bei chronischen und chronisch kalzifizierenden Pankreatitiden Pankreasantikörper und auch erhöhte IgA- und IgG- oder IgA- und IgM-Spiegel nachgewiesen.

In unserer Untersuchungsgruppe reagierten alle Seren in unterschiedlicher Ausprägung mit Antikörpern verschiedener Immunglobulinklassen an Pankreasschnitten, obwohl nur 9 Seren Immunglobulinerhöhungen zeigten. Dies kann dafür sprechen,

daß ein Vorliegen von Antikörpern gegen iso- oder autologes Pankreas nicht zwingend mit Erhöhungen der Immunglobuline verknüpft sein muß.

In unseren Untersuchungen waren bei den 14 Patienten mit chronischer Pankreatitis 7 Seren (also 50 %) mit Ig-Erhöhungen zu finden (3mal IgA, 1mal IgG, 1mal IgM, 1mal IgA und IgG, 1mal IgG und IgM).

Dagegen gab es in der Gruppe der Seren von Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis nur eine Erhöhung, nämlich von IgA, 7 Seren waren normal. Es scheint also hier augenscheinlich keine Verbindung zwischen dem Auftreten von Kalzifizierungen und besonders hohen Immunglobulin-Titern vorzuliegen, im Gegenteil könnte man annehmen, daß die Seren bei kalzifizierenden Pankreatitiden im Vergleich zu Pankreatitiden ohne Kalzifizierungen eher normale Ig-Spiegel aufweisen.

Auch bei den 5 Patienten mit akuten Exazerbationen chronischer Pankreatitiden gab es keine auffällig hohen Ig-Titer. Nur das Serum einer 58jährigen Frau zeigte starke IgM-Erhöhung, bei dem Serum einer 35jährigen Patientin war IgM dagegen sogar erniedrigt.

Den größten Anteil an den 9 Fällen der Untersuchungsgruppe, die Ig-Erhöhungen zeigten, stellten also die Patienten mit chronischen Pankreatitiden ohne Kalzifizierungen, nämlich 7 Seren. Unabhängig davon reagierten aber in den Immunfluoreszenzuntersuchungen auch alle normalen Seren mit Pankreasschnitten. Dies und die Tatsache, daß immerhin 9 der 27 Seren unserer Patienten mit chronischer Pankreatitis Ig-Erhöhungen aufwiesen, deuten auf eine immunpathologische Beteiligung an den Erkrankungen unserer Patienten hin.

Wir fanden also ähnlich DANI et al. (1974) und BANK et al. (1973) in den Seren unserer Patienten in einem Drittel der Fälle Erhöhungen von IgA, IgG oder IgM. Eine besondere Assoziation zwischen Erhöhungen der Immunglobulinspiegel und Kalzifizierungen oder akuten Exazerbationen konnten wir nicht nachweisen.

Es sei noch erwähnt, daß ein Patient, der neben der chronischen Pankreatitis auch noch an einem Morbus Crohn litt (Serum Nr. 8), normale Ig-Serumspiegel aufwies.

Bei 4 Patienten waren Pankreaspseudozysten diagnostiziert worden; davon hatte ein Patient (Serum Nr. 10) Kalzifizierungen und normale Ig-Titer, ein Patient wies keine Kalzifizierungen und ebenfalls normale Ig-Spiegel auf (Serum Nr. 12), während 2 weitere Patienten ohne Kalzifizierungen erhöhte Ig-Spiegel hatten (Serum 29 und 31).

In der Kontrollgruppe bot ein Serum von einem Patienten mit Choledocholithiasis eine leichte Erhöhung von IgA, ein Serum zeigte IgA- und IgM-Erniedrigung (Patientin mit Rektumkarzinom), die restlichen Seren hatten Ig-Spiegel im Bereich der Norm.

| Seren v. Pat. mit                | ERHÖHUNG |     |     |           |           | ERNIEDRIGUNG |           | NORMAL |
|----------------------------------|----------|-----|-----|-----------|-----------|--------------|-----------|--------|
|                                  | IgA      | IgG | IgM | IgA + IgG | IgG + IgM | IgM          | IgA + IgM |        |
| Chron. kal. P'itis<br>n = 8      | 1        | -   | -   | -         | -         | -            | -         | 7      |
| Chron. (rez.) P'itis<br>n = 14   | 3        | 1   | 1   | 1         | 1         | -            | -         | 7      |
| Ak. Ex. chron. P'itiden<br>n = 5 | -        | -   | 1   | -         | -         | 1            | -         | 3      |
| Summe(chron. P'itiden)<br>n = 27 | 4        | 1   | 2   | 1         | 1         | 1            | -         | 17     |
| Kontrollgruppe<br>n = 5          | 1        | -   | -   | -         | -         | -            | 1         | 3      |

Tab. 9: Übersicht über die Ergebnisse der Immunglobulinbestimmungen in den Seren der Untersuchungsgruppe (Patienten mit chronischer Pankreatitis) und der Kontrollgruppe (Patienten ohne Pankreaserkrankung). Absolutwerte siehe Tab. 1, 2 und 6

| SERUM<br>DIAG. Ig-TIT. | LOKALISATION DER REAKTION MIT Ig-KLASSE |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | OBDUKTIONS-<br>MATERIAL |
|------------------------|-----------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------------------|
|                        | Zm                                      | Za    | gr    | c     | a     | i     | p     | pt    | ll    | n     | pn    | int   |                         |
| 5krP/A♦                | A                                       | A     | A G   |       |       |       | G     |       |       | A M   |       |       | 82 / 1981               |
| 16kcP/n                |                                         |       | G     |       |       |       | M     |       |       |       |       | A M   | 97 / 1981               |
| 24kcP/M♦♦              |                                         |       | G     |       |       |       | AGM   |       | G     |       |       | AG    | "                       |
| 22kcP/A♦♦              | A                                       |       |       |       |       |       | A     |       |       |       |       |       | 110 / 1981              |
| 30aE/n                 |                                         |       |       |       | A     |       | A     |       |       |       |       |       | "                       |
| 3kcP/n                 |                                         |       |       |       |       |       | AGM   |       |       |       |       |       | 122 / 1981              |
| 15kcP/n                |                                         |       |       |       |       | A     |       | A M A |       | G     |       |       | "                       |
| 18krP/A♦♦♦G            |                                         |       |       | AGM   |       |       | A     |       |       |       |       |       | "                       |
| 19kcP/A                |                                         |       |       | GM    |       |       | A     |       |       |       |       |       | "                       |
| 27kcP/n                |                                         |       | G     |       |       | G     | AG    |       |       | A M A | G     |       | "                       |
| 8kcP/n                 |                                         |       |       | M     |       |       | AG    |       |       |       |       |       | 126 / 1981              |
| 9aE/n                  |                                         |       |       |       |       |       |       | A     |       |       |       |       | "                       |
| 10kcP/n                |                                         | M     |       |       |       |       |       | A M   |       |       |       |       | "                       |
| 11aE/n                 |                                         |       |       |       |       |       |       | A     |       |       |       |       | "                       |
| 12kcP/n                |                                         |       |       |       |       |       |       |       |       | G     |       |       | "                       |
| 14kcP/n                |                                         | M     |       | AGM   |       |       |       |       |       |       |       |       | 129 / 1981              |
| 21kcP/n                |                                         |       |       | M     |       | A M   |       | G G   | A M   |       |       | G G   | "                       |
| 26krP/n                |                                         |       | G     | AGM   |       |       |       |       |       |       |       |       | "                       |
| 1krP/n                 |                                         |       |       |       |       |       |       | AGM   |       |       |       |       | 134 / 1981              |
| 13kcP/n                |                                         |       |       |       |       |       |       | A     |       | A G   |       |       | "                       |
| 20kcP/n                |                                         |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | "                       |
| 4aE/M♦♦                |                                         |       |       | G     |       |       | M     |       |       | M     |       | A G   | 143 / 1981              |
| 17kcP/n                |                                         |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | A G   | "                       |
| 23aE/M                 |                                         |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | A M   | "                       |
| 28krP/G                |                                         |       |       |       |       |       |       |       |       | GM    |       | A     | "                       |
| 29kcP/G♦♦♦M            |                                         |       |       |       |       | G     | G     |       |       | GM    |       | A     | "                       |
| 31krP/A                |                                         |       |       | G     |       |       |       |       |       | G     |       | A G   | "                       |
| INSGESAMT              | 2 x A                                   | 1 x A | 1 x A | 3 x A | 1 x A | 2 x A | 7 x A | 6 x A | 2 x A | 3 x A | 1 x A | 7 x A |                         |
|                        |                                         |       | 5 x G | 6 x G |       | 2 x G | 7 x G | 3 x G | 1 x G | 7 x G | 1 x G | 5 x G |                         |
|                        |                                         | 2 x M |       | 6 x M |       | 2 x M | 4 x M | 4 x M | 2 x M | 5 x M |       | 2 x M |                         |

Tab. 10: Übersicht über die Reaktionen der 27 Untersuchungs-  
seren auf den Pankreaspräparaten.

Wie in Tab. 7 wird die Lokalisation der jeweiligen Reaktion angegeben (senkrechte Spalten, Legende wie Tab. 7), auch die jeweilig reagierenden Ig-Klassen sind angegeben (A für IgA usw.).

In der ersten senkrechten Spalte erscheinen die Nummern der Seren mit Diagnose-Kurzbezeichnungen (cP = chronische Pankreatitis, crP = chronisch rezidivierende Pankreatitis, ccP = chronisch kalzifizierende Pankreatitis, aE = akute Exazerbation einer cP) und den Titern der 3 untersuchten Immunglobuline (n = alle im Normbereich, ♦ = mittelgradig bzw. ♦♦ = stark erhöht, ↓ = mittelgradig erniedrigt). Unter INSGESAMT wird summiert, wie oft die einzelnen Immunglobuline an den entsprechenden Pankreasstrukturen reagierten.

#### 5.4.2. Immunfluoreszenzreaktionen der Untersuchungsseren am homologen exokrinen Pankreas und an den Kontrollorganen (Herz, Leber, Skelettmuskel)

Im Folgenden werden die Immunfluoreszenzuntersuchungen und die dabei erzielten Ergebnisse mit Bekanntem aus der zur Verfügung stehenden Literatur diskutiert.

Zunächst wurde Serum Nr. 5 (männl., 39 Jahre, 0 Rh+, IgA mittelgradig erhöht, chronisch rezidivierende Pankreatitis) auf Gewebe der Sektion 82/1981 untersucht.

Dabei zeigte sich, daß IgA-Antikörper, also Immunglobuline der Klasse, die in diesem Serum erhöht war, auf Pankreasschnitten an Granula in Azinozyten und an Azinozytenmembranen gebunden waren. Weiterhin konnten wir IgA z.T. auch an Azinoepithelaußenseiten und an Kernsubstanzen gebunden finden. IgG-Antikörper aus diesem Serum lagerten sich periazinär und an Granula ab, IgM-Antikörper reagierten z.T. mit Azinozytenkernen.

Die Pankreaskontrollpräparate sind alle negativ, bei den Kontrollorganen ist bis auf eine Darstellung der Querstreifung beim Skelettmuskel ebenfalls alles negativ.

FREYTAG und KLÖPPEL (1969) sowie NIZZE (1978) führten an, daß es sich bei Pankreasantigenen um exokrine Pankreasenzyme handeln könne und pankreasspezifische Antikörper sich gegen diese Enzyme richten könnten. So fand NIZZE (1978) bei Verwendung von Kaninchenimmunseren gegen gereinigte exokrine Pankreasenzyme im Mäusepankreas periazinäre Ig-Ablagerungen, Ablagerungen in mit Sekret gefüllten Azinuslumen oder auch an Azinozytenbasalmembranen. Demnach könnten auch die Ergebnisse des Serums Nr. 5 für eine Darstellung von Enzymen als antigene Strukturen sprechen.

NEVALAINEN, FOWLE und JANIGAN (1977) hielten durch Fremdsereen vermittelte Schäden an Azinozytenmembranen für einen auslösenden Faktor bei der Entstehung von Pankreasnekrosen.

Auch FREYTAG und KLÖPPEL (1969) sehen in primären Schädigungen von Organepithelien wichtige Entstehungsursachen für Pankreatitiden.

Auch unser Serum Nr. 5 zeigt an Zellaußenseiten und -membranen Ablagerung von IgA, der Ig-Klasse, die in diesem Serum mittelgradig erhöht vorlag. Möglicherweise könnten diese Antikörper in vivo ähnliche Reaktionen auslösen, wie die von den genannten Autoren beschriebenen. Die von uns beobachtete Ablagerung von IgA und IgM an Kernsubstanzen ist von anderen Autoren nicht geschildert worden.

Die Seren Nr. 16 (weibl., 36 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, Ig-Titer normal, chronisch kalzifizierende Pankreatitis) und Nr. 24 (weibl., 26 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, IgM stark erhöht, chronische Pankreatitis) wurden auf Schnitten der Sektion 97/1981 untersucht.

Serum Nr. 16 band dabei auf den Pankreaspräparaten IgA schwach interstitiell, IgG erschien teilweise in den Lumen der Ausführungsgänge und an Granula in den Azinozyten gebunden, während IgM nur sehr schwache periazinäre und interstitielle Reaktionen bot. Auf den Konjugatkontrollen Anti-IgA und Anti-IgG ließen sich schwache interstitielle Reaktionen erkennen, so daß die geschilderte interstitielle IgA-Ablagerung möglicherweise nicht auf Antikörpern aus dem Patientenserum beruht.

Bei den Kontrollorganen gab es nur einige unspezifische Darstellungen etwa der Querstreifung beim Skelettmuskel, die jedoch auch bei den Konjugatkontrollen auftraten und somit nicht auf Reaktionen des Patientensерums zurückzuführen sind.

Das Serum Nr. 24 reagierte auf den Pankreaspräparaten mit IgA periazinär. Angeschnittene Blutgefäße sind frei von Antigen-Antikörper-Konjugat-Komplexen. IgG aus Serum 24 fand sich interstitiell, an Granula der Azinozyten und periazinär (siehe Abb. 1). Auch IgM-Antikörper konnten durch das entsprechende Konjugat periazinär nachgewiesen werden. Die Konjugatkontrolle Anti-IgA zeigte dasselbe Bild wie das auch mit Patientenserum beschichtete Präparat, die anderen Kontrollen waren alle nega-

tiv. Diese positive Konjugatkontrolle könnte vielleicht dadurch zu erklären sein, daß Kontamination aus IgA des Pankreasschnittes nachgewiesen wurde.

Bei den Kontrollorganen zeigten sich nur im mit Patientenserum und Anti-IgG beschichteten Skelettmuskelpräparat kleinfleckige und punktförmige Niederschläge, sonst waren keine Auffälligkeiten zu beobachten.

Auch die Ergebnisse dieser beiden Seren könnten sehr wohl dafür sprechen, daß sich in ihnen befindliche Antikörper an Antigene im Pankreas banden, die enzymatischen Charakter haben. Dafür stünden die verschiedenen granulären und periazinären Reaktionen von IgA, IgG und IgM, sowie auch die intraluminale Reaktion von IgG bei Serum 16.

Auf Präparate der Sektion 110/1981 wurden die Seren Nr. 22 (männl., 40 Jahre, 0 Rh+, IgA stark erhöht, chronisch kalzifizierende Pankreatitis) und Nr. 30 (männl., 20 Jahre, 0 Rh+, Ig-Titer normal, akute Exazerbation) untersucht.

Beim Serum Nr. 22, dessen IgA-Titer stark erhöht war und dessen Spender an einer chronischen Pankreatitis mit Kalzifizierungen litt, fand sich dabei auf den Pankreasschnitten nur eine Darstellung von an Azinozytenmembranen gebundenen IgA-Antikörpern, sonst waren alle Pankreaspräparate und -kontrollen negativ (siehe Abb. 2).

Auch bei den Präparaten der Kontrollorgane ist außer einigen unspezifischen Darstellungen etwa der Querstreifung beim Muskel alles negativ.

Das Serum Nr. 30, von einem Patienten mit einem akuten Schub einer chronischen Pankreatitis, aber normalen Ig-Titern, zeigte ebenfalls nur im Präparat Patientenserum + Anti-IgA positive Reaktionen am Pankreas, und zwar periazinär und diskontinuierlich in einzelnen Azinozyten.

Für die Kontrollorgane gilt ähnliches wie für Serum 22, gelegentlich tritt eine Darstellung von Querstreifungen oder Zellgrenzen auf, die jedoch auch in nicht mit Patientenseren

beschichteten Konjugatkontrollen anzutreffen und somit nicht als Reaktion des Serums zu betrachten ist.

Interessant ist das Ergebnis des Serums Nr. 22. Es stammte von einem Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis, übrigens dem einzigen aus der 3 Patienten umfassenden Gruppe mit dieser Form der Pankreatitis, der Ig-Erhöhlungen hatte. So war IgA in diesem Serum stark erhöht, und nur mit IgA reagierte das Serum am Pankreasgewebe, indem es diese Antikörper an die Azinozytenmembranen band.

Man könnte sich vorstellen, daß die Entstehung einer chronisch kalzifizierenden Pankreatitis bei dem Patienten, von dem Serum Nr.22 stammte, die isolierte Erhöhung von IgA in diesem Serum und die Reaktion eben dieser Ig-Klasse mit homologem Pankreas in einem Zusammenhang stehen. Es sei daran erinnert, daß die eventuell durch immunologische Mechanismen bedingte primäre Schädigung an Organepithelien mehrfach als möglicher Kausalfaktor für die Entstehung von Pankreatitiden genannt wurde (FREYTAG und KLÖPPEL, 1969; SEELIG und SEELIG, 1976).

Die Reaktion von Serum Nr. 30 (azinozytäre und periazinäre IgA-Ablagerung) würde eher wieder an Enzyme als Angriffspunkte für immunologische Mechanismen denken lassen.

Die Seren Nr. 3, 15, 18, 19 und 27 wurden alle auf Präparaten der Sektion 122/1981 untersucht.

Dabei zeigten alle Seren mit den Kontrollorganen Herz, Muskel und Leber nur größtenteils unspezifische Reaktionen, lediglich die Seren Nr. 3 und Nr. 27 boten bei den Leberpräparaten Reaktionen mit den Hepatozytenkernen mit IgM bzw. IgA und IgM und bei den Skelettmuskelschnitten mit Kernen von Myozyten und Zellen des Perimysiums mit IgM bzw. IgG; ferner reagierten die Seren Nr. 27 und Nr. 15 schwach mit den Kernen von Herzmuskelzellen mit IgG bzw. IgM. Diese Reaktionen traten in den entsprechenden Konjugatkontrollen nicht auf, waren also anscheinend auf Immunglobuline aus den Patientenserum zurückzuführen, im Gegensatz zu anderen unspezifischen Dar-

stellungen etwa von Zellgrenzen oder Querstreifungen, die auch oder sogar nur in den Konjugatkontrollen zu sehen waren.

Bei den Pankreaspräparaten erwiesen sich die Kontrollen durchweg als negativ, die Untersuchungspräparate zeigten jedoch für alle 5 Seren eigenständige Ergebnisse.

So reagierte Serum Nr. 3 (weibl., 55 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, Ig-Titer normal, chronische Pankreatitis) mit Antikörpern aller 5 Ig-Klassen periazinär (siehe Abb. 3 und 4).

Serum Nr. 15 (männl., 44 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, Ig-Titer normal, chronische Pankreatitis) band IgA-Antikörper periazinozytär und intraazinär (siehe Abb. 5), IgG an Azinozytenkerne und IgM periazinozytär. So ergab sich bei IgA und IgM ein wabenartiges Muster der Grünfluoreszenz.

IgA-Antikörper aus Serum Nr. 18 (männl., 44 Jahre, A<sub>2</sub> Rh+, IgA stark und IgG mittelgradig erhöht, chronisch rezidivierende Pankreatitis) wurden im Azinozyten-Zytoplasma und periazinär nachgewiesen (siehe Abb. 6), IgG war im Zytoplasma um die Kerne herum zu finden und auch IgM konnte im Zytoplasma diffus verteilt entdeckt werden.

Aus Serum Nr. 19 (männl., 42 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, IgA mittelgradig erhöht, chronische Pankreatitis) stammende IgA-Antikörper waren periazinär, IgG-Antikörper zytoplasmatisch um die Kerne herum und IgM-Antikörper diffus im Zytoplasma gebunden.

Schließlich lagerte sich IgA aus dem Serum Nr. 27 (männl., 38 Jahre, A<sub>2</sub> Rh+, Ig-Titer normal, chronisch kalzifizierende Pankreatitis) perinukleär und nukleär ab, abschnittsweise sahen wir geringe periazinäre, zytoplasmatische und innerhalb des Azinuslumens gelegene Grünfluoreszenz (siehe Abb. 7). IgG fanden wir granulär, periazinär und intraazinär, IgM war an einige Azinozytenkerne gebunden (siehe Abb. 8).

Betrachtet man die Ergebnisse dieser Gruppe insgesamt, so fällt die recht hohe Zahl von Reaktionen an Zellkernen auf. Die Seren Nr. 3 und Nr. 27 reagierten mit IgM bzw. IgA und IgM an Hepatozytenkernen und mit IgM bzw. IgG an Perimysiumkernen und Myozytenkernen, ferner zeigten die Seren Nr. 27

und 15 auch schwache Reaktionen von IgG bzw. IgM an Kernen von Herzmuskelzellen. Diese beiden Seren reagierten auch mit IgA und IgM bzw. IgG an den Azinozytenkernen.

Es steht demnach zu vermuten, daß die gefundenen antinukleären Antikörper nicht organspezifisch sind. Eine Beziehung zur Pankreaserkrankung der betreffenden Patienten kann deshalb nicht hergestellt werden.

Desungeachtet reagierten die Seren aber an pankreasspezifischen Strukturen, und zwar vor allem mit IgA-Antikörpern periazinär (Nr. 3, 18, 19 und 27). Auch der Nachweis hauptsächlich von IgG und IgA in den Lumen von Ausführungsgängen (Nr. 15) sowie intraazinär (Nr. 15 und 27) und periazinozytär (Nr. 15), ferner auch von IgG an Granula in Azinozyten (Nr. 27) läßt an pankreasspezifische Reaktionen denken. Aufgrund der Lokalisationen der Ig-Ablagerungen könnten auch hier vor allem exokrine Pankreasenzyme als antigene Strukturen in Frage kommen, periazinozytäre Ig-Ablagerungen könnten wohl auch von Zellmembranantikörpern herrühren.

Demnach hätten also alle 5 Seren spezifisch mit Pankreas reagiert, alle 5 Patienten mit chronischen Pankreatitiden hätten also Antikörper gegen homologes Pankreas. Die Seren Nr. 18 (mit erhöhten IgA- und IgG-Titern), Nr. 19 (mit erhöhtem IgA-Titer) und Nr. 27 (von einem Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis) zeigen im Vergleich zu Nr. 3 und Nr. 15 keine besonderen Auffälligkeiten.

Die Seren Nr. 8, 9, 10, 11 und 12 wurden auf Präparaten der Sektion 126/1981 geprüft.

Auch diese 5 Seren zeigten Reaktionen auf Pankreaspräparaten, während die Kontrollschnitte durchweg negativ ausfielen.

Beim Serum Nr. 8 (männl., 44 Jahre, 0 Rh+, Ig-Titer normal, chronische Pankreatitis und Morbus Crohn) waren IgA- und IgG-Antikörper periazinär entlang der Basalmembran zu finden, IgM war diffus im Zytoplasma der Azinozyten verteilt.

Serum Nr. 9 (weibl., 33 Jahre, 0 Rh+, Ig-Titer normal, akute Exazerbation) reagierte mit IgA an den Außenseiten der Azino-

zyten, also periazinozytär, so daß die Grünfluoreszenz ein wabenartiges Muster ergab.

Serum Nr. 10 (männl., 34 Jahre, 0 Rh+, Ig-Titer normal, chronisch kalzifizierende Pankreatitis, Zyste) brachte ein ähnliches Ergebnis, wobei hier jedoch auch in geringem Ausmaß IgM-Antikörper an die Azinozytenaußenseiten gebunden waren. Aus dem Serum Nr. 11 (männl., 24 Jahre, 0 Rh+, Ig-Titer normal, akute Exazerbation) reagierten IgG-Antikörper mit einem Teil der Azinozytenkerne, IgM-Antikörper lagerten sich periazinozytär an, so daß wieder eine Wabenstruktur der Grünfluoreszenz entstand. IgA-Antikörper konnten bei diesem Serum nicht nachgewiesen werden.

Serum Nr. 12 dagegen (weibl., 40 Jahre, 0 Rh+, Ig-Titer normal, chronische Pankreatitis, multiple Zysten) reagierte ausschließlich mit IgA, und zwar periazinozytär.

Im Gegensatz zu den vorher geschilderten Seren, die vor allem periazinäre Ig-Ablagerungen hervorriefen, reagierten diese 5 auf Präparaten der Sektion 126/1981 untersuchten Seren also in erster Linie periazinozytär.

Dort befindliche Antigene könnten in erster Linie an die Zellmembranen gebunden sein. 4 der 5 Seren zeigten solche Reaktionen; Nr. 9, 10 und 12 mit IgA, Nr. 10 auch mit IgM und Nr. 11 nur mit IgM, während Nr. 8 periazinär mit IgA und IgG, und zytoplasmatisch mit IgM Reaktionen bot.

Als einziges Serum dieser Gruppe reagierte Nr. 11 ferner mit IgG an den Kernen der Azinozyten.

Beim Kontrollorgan Herz gab es außer einigen unspezifischen Darstellungen (Zellgrenzen, Querstreifung) nur negative Präparate, lediglich das Serum Nr. 3 band in geringem Maße IgM-Antikörper an Herzmuskelzellkerne, übrigens auch an Skelettmuskelzellkerne.

Bei den Skelettmuskelpräparaten zeigten auch die Seren Nr. 9 und Nr. 10 an Myozytenkerne gebundene IgM-Antikörper, sonst waren alle Proben bis auf gelegentliche Darstellung von Zellgrenzen oder Querstreifen negativ.

Bei den Leberpräparaten fanden wir IgG aus Serum 8 an kollagene Faserstrukturen gebunden, IgM war in einzelnen Hepatozyten im Zytoplasma sichtbar. Aus Serum 9 waren vereinzelt IgG-Antikörper an den Außenseiten der Hepatozyten dargestellt, IgG aus Serum Nr. 10 lagerte sich in ganz geringem Ausmaß im Zytoplasma von Hepatozyten ab. Die Leberpräparate mit Serum Nr. 11 waren negativ, während Serum Nr. 12 ebenfalls IgG in disseminiert verteilten Hepatozyten abgelagerte.

Inwieweit diese gegen Kontrollorganstrukturen gerichteten Antikörper auf Kreuzreaktionen beruhen, kann im Einzelnen nicht festgestellt werden.

Jedenfalls zeigten auch diese 5 Seren gegen spezifische Pankreasstrukturen gerichtete Reaktionen, die in dieser oder ähnlicher Weise auch von anderen Autoren beobachtet wurden (NIZZE, 1978). Ferner richteten sich die auf Pankreasschnitten nachgewiesenen Antikörper vor allem gegen periazinozytäre und periazinäre Strukturen, während bei den Kontrollorganen hauptsächlich nukleäre und z.T. zytoplasmatische Reaktionen im Vordergrund standen. Lediglich Serum Nr. 11 band IgG auf Pankreasschnitten an Kernsubstanzen von Azinozyten, dieses Serum zeigte aber mit den Kontrollorganen keinerlei Reaktionen. So handelt es sich bei den auf Pankreasschnitten gebundenen Antikörpern sicherlich um pankreasspezifische Antikörper, die bei den entsprechenden Patienten im Zusammenhang mit ihren chronischen Pankreaserkrankungen zu sehen sind. Wie durch Immunreaktionen des Typs II oder III, die von Antikörpern gegen Enzyme oder Membranen ausgelöst werden können, Pankreasantzündungen entstehen könnten, ist bei NIZZE (1978) beschrieben worden. NIZZE (1978) fand nach Verabfolgung von Antikörpern gegen exokrine Pankreasenzyme im Mäusepankreas ähnliche Ig-Ablagerungen wie wir auf unseren mit menschlichen Seren beschichteten Gefrierschnitten von menschlichen Pankreaten; nämlich intraluminal, peri- und intraazinär, oder auch an den Basalmembranen und in mit Sekret gefüllten Azinuslumen.

Demnach wäre es denkbar, daß auch in diesen 5 Seren Antikörper existierten, die sich gegen Strukturen in Pankreasmembranen

oder gegen exokrine Pankreasenzyme richten. Es ist auch hier festzustellen, daß alle 5 Seren trotz normaler Ig-Titer Reaktionen am Pankreas zeigen.

Die Seren von Patienten mit Kalzifizierungen (Nr. 10) und akuten Exazerbationen (Nr. 9 und 11) unterscheiden sich nicht wesentlich von den Seren der Patienten ohne diese Komplikationen (Nr. 8 und 12).

Die Seren Nr. 14, 21 und 26 untersuchten wir auf Gefrierschnitten von Organen des Sektionsfalles 129/1981.

Dabei lagerte Serum Nr. 14 (männl., 34 Jahre, 0 Rh+, Ig-Titer normal, chronische Pankreatitis) IgA, IgG und IgM im Zytoplasma der Azinozyten ab, so daß es durch die entsprechenden Konjugate jeweils zu einer grobfleckigen Grünfluoreszenz kam. IgM konnte zusätzlich auch an Azinozytenaußenseiten gefunden werden.

Bei METZGAR (1964) wurden wie oben besprochen mit Rhesusaffenserum und -pankreaten ähnliche Ergebnisse erzielt, die den Autor dazu veranlaßten, die dargestellten antigenen Strukturen als Enzyme zu bezeichnen. So könnte auch bei uns in diesem Falle die grobfleckige Grünfluoreszenz im Zytoplasma der Azinozyten für eine Bindung von Antikörpern aus dem Patientenserum mit Zymogengranula sprechen. Zudem läßt sich IgM an den Azinozytenaußenseiten sehen, wofür mögliche Gründe schon genannt wurden.

Serum Nr. 21 (männl., 39 Jahre, 0 Rh+, Ig-Titer normal, chronisch kalzifizierende Pankreatitis) band IgA panzellulär in disseminiert verteilten Azinozyten, Antikörper der IgG-Klasse waren punktförmig und linear perizellulär (-azinozytär) sowie auch fleckförmig interstitiell abgelagert, IgM konnten wir in mehreren Azinozyten finden, so daß es zu einer wolligen zytoplasmatischen Grünfluoreszenz kam, die die Zellkerne auspartete. Zudem wiesen wir IgM an Granula in den Lumen der Azinogebunden nach.

Das Serum Nr. 26 (männl., 51 Jahre, Ig-Titer normal, chronisch rezidivierende Pankreatitis) ergab mit dem entsprechenden Konjugat bei Untersuchung auf IgA eine wollige Grünfluoreszenz

im Lumen der Azini, d.h. IgA-Antikörper waren an Sekretstrukturen gebunden. IgG beobachteten wir granulär und linear um die Azinozyten herum abgelagert; z.T. konnten wir auch eine granuläre Reaktion im Interstitium und im Zytoplasma der Azinozyten nachweisen. Mit IgM reagierte Serum Nr. 26 ähnlich wie Nr. 21, also im Zytoplasma und an Granula im Azinusbinnenraum, die Grünfluoreszenz war hier jedoch etwas schwächer.

Die Pankreaskontrollpräparate aller 3 Seren (Nativschnitte, nur mit Patientenserum beschichtete Präparate, Konjugatkontrollen) waren alle negativ, so daß man sicher von spezifischen Reaktionen ausgehen kann, die durch Antikörper aus den Patientenserum verursacht wurden. Sicher kann diesen Antikörpern auch eine pankreasbezogene Organspezifität bescheinigt werden, da die Präparate der Kontrollorgane nur unwesentliche Reaktionen boten. Alle Herzpräparate waren negativ, auf einigen Skelettmuskelpräparaten trat vereinzelt eine mäßige Darstellung von Querstreifen und Zellgrenzen auf, die jedoch auch in den Konjugatkontrollen ohne vorherige Inkubation mit den entsprechenden Patientenserum beobachtet wurde, und so sicherlich nicht auf Antikörper aus den Patientenserum zurückzuführen ist.

Lediglich bei den Leberpräparaten bindet Serum Nr. 14 IgG an einzelne Hepatozytenkerne, ebenfalls IgG aus Nr. 21 ruft eine diffuse zytoplasmatische Grünfluoreszenz einzelner Hepatozyten hervor, ferner banden sich IgM-Antikörper aus Serum 21 an lymphoide Zellen, die in den Portalfeldern zu sehen waren. Die anderen Leberpräparate und Kontrollschnitte waren negativ.

Bei diesen 3 Seren sprechen die geschilderten Ergebnisse ganz deutlich für eine Bindung von Antikörpern an enzymatische Strukturen. Auffällig sind die Ablagerungen von IgM aus allen 3 Seren im Zytoplasma, ferner von IgA aus Serum Nr. 21 und 14 und IgG aus Nr. 14 und 26 im Zytoplasma. In den Azinusbinnenräumen lassen sich IgM aus Serum Nr. 21, IgM und IgA aus Serum Nr. 26 finden, IgG aus Serum Nr. 26 bindet sich an Granula in den Azinozyten, ferner finden wir IgG aus Nr. 21 und 26 um die Azinozyten herum in punktförmiger und linearer Ablagerung.

Eine gewisse Ähnlichkeit im Reaktionsverhalten dieser 3 Seren, die ja auf Schnitten des gleichen Pankreas untersucht wurden, ist nicht zu übersehen. Sicherlich hängt die Art der Reaktion auch vom untersuchten Antigenpräparat ab.

Alle 3 Seren wie auch normale Patienten auf und vorgetragen zeigten deutliche spezifische Reaktionen am Pankreas. Das Serum Nr. 21 von einem Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis unterscheidet sich dabei nicht nennenswert von den beiden anderen Seren. Möglicherweise spielen auch bei diesen 3 Patienten immunologische Beteiligungen eine Rolle beim Verlauf dieser Pankreaserkrankungen, obwohl die Ig-Titer keine Erhöhungen zeigen. Es ist schon erwähnt worden, daß solche Befunde dafür sprechen könnten, daß ein Vorliegen von Iso- oder Autoantikörpern gegen Pankreasantigene nicht zwingend mit Erhöhungen der Immunglobuline verknüpft sein muß.

Die Seren Nr. 1, 13 und 20 prüften wir auf Schnitten des Sektionsfalles 134/1981.

Dabei band Serum Nr. 1 (weibl., 29 Jahre, A<sub>1</sub> Rh+, Ig-Titer normal, chronisch rezidivierende Pankreatitis) Antikörper aller 3 Ig-Klassen periazinozytär, so daß eine Wabenstruktur der Grünfluoreszenz entstand. Am stärksten war diese bei IgG ausgeprägt (siehe Abb. 9), IgA und IgM konnten nicht in diesem Maße nachgewiesen werden.

Serum Nr. 13 (weibl., 36 Jahre, A<sub>1</sub> Rh-, Ig-Titer normal, chronisch kalzifizierende Pankreatitis) band IgG an die Kerne der Azinozyten, so daß es zu einer starken Grünfluoreszenz kam. Auch Gangepithelien stellten sich dar (siehe Abb. 10 und 11).

IgA und IgM fanden wir nicht, ebenso waren alle Pankreaskontrollschnitte negativ. Es kann demnach davon ausgegangen werden, daß es sich bei dem Ergebnis mit IgG um eine spezifische Reaktion von Antikörpern aus diesem Serum mit Strukturen der Pankreaszellkerne handelt. Allerdings reagierte das Serum auch an den Leberpräparaten und zwar so, daß sich im Präparat PS + Anti-IgM einzelne Kerne mit schwacher Grünfluoreszenz

darstellten. Jedoch boten die Leberkonjugatkontrollen, also die Präparate ohne Patientenserum, bei den Schnitten mit Anti-IgG ebenfalls vereinzelt positive Kerne, so daß es sich bei diesen Reaktionen an der Leber nicht um spezifische, durch Immunglobuline aus den Patientenserum ausgelöste Immunreaktionen handeln muß.

Serum Nr. 20 (weibl., 38 Jahre, A<sub>2</sub> rh-, Ig-Titer normal, chronisch kalzifizierende Pankreatitis) reagierte mit IgA periazinozytär und in geringem Ausmaß an den Kernen der Azinuszellen; bei den IgG-Antikörpern war die Reaktion mit den Kernen der Pankreaszellen generalisiert sehr deutlich ausgeprägt. IgM war nicht nachzuweisen.

Es sei gleich bemerkt, daß auch hier die Pankreaskontrollpräparate für alle 3 Seren völlig negativ waren. Alle 3 Seren zeigten lediglich gewisse Reaktionen an den Zellkernen der Kontrollorgane.

So band Serum Nr. 1 IgG-Antikörper, Serum Nr. 20 IgG- und IgM-Antikörper herdförmig an Herzmuskelzellkerne. Ansonsten boten Herz- und Skelettmuskelpräparate nur einige unspezifische Darstellungen, die auch in den Konjugatkontrollen auftraten.

Auf den Leberpräparaten dagegen zeigte Serum Nr. 13 in schwachem Ausmaße an einzelne Hepatozytenkerne gebundene IgM-Antikörper. Ähnliches gilt für IgG aus Serum Nr. 20. Die entsprechenden Konjugatkontrollen bieten jedoch bei allen 3 Seren in diesem Fall (IgG) dasselbe Bild wie die Untersuchungspräparate, so daß diese Ergebnisse wohl nicht auf Reaktionen der Patientenserum zurückzuführen sind, sondern eher auf den Konjugaten selbst beruhen. So bleiben effektiv die Reaktionen von Nr. 1 und 20 an Herzmuskelzellkernen und von Nr. 13 an Leberzellkernen, die dafür sprechen könnten, daß die beschriebenen Reaktionen der Seren an den Kernen der Pankreaszellen nicht durch pankreasspezifische Antikörper verursacht werden.

Serum Nr. 1 reagierte jedoch ausschließlich periazinozytär, Serum Nr. 13 mit IgG an Pankreaszellkernen, hingegen mit IgM geringfügig an Leberzellkernen, während Nr. 20 IgA und IgG an Pankreaszellkerne band, aber mit IgG und IgM an Herzmuskel-

zellkernen und nur mit IgG an Leberzellkernen reagierte. Sicherlich sind die beschriebenen Reaktionen an den Zellkernen mehrerer Organe auch von spezifischen Besonderheiten des verwendeten Gewebematerials abhängig. Klammert man aber die Ergebnisse an den Pankreaszellkernen vielleicht doch als unspezifisch aus, so bleiben die periazinozytären Reaktionen mit IgA, IgG und IgM von Serum Nr. 1 und IgA von Serum Nr. 20, die für mögliche immunologische Mechanismen bei den Erkrankungen der betreffenden Patienten sprechen.

Auch in der Gruppe dieser 3 Seren waren die Ig-Titer jeweils normal, die Seren der 2 Patientinnen mit chronisch kalzifizierenden Pankreatitiden (Nr. 13 und 20) zeigten keine besonders auffälligen Reaktionen.

Die verbleibenden 6 Seren unserer Untersuchungsgruppe (Nr. 4, 17, 23, 28, 29 und 31) wurden auf Schnitten von Organen des Sektionsfalles 143/1981 untersucht.

Bei dieser Serie wurden, wie in 4.2.1. geschildert, die Konjugatkontrollen Anti-IgA, Anti-IgG und Anti-IgM aus Zeitgründen nicht für jedes einzelne Serum neu angefertigt, sondern es wurden von jedem Organ 3 Schnitte angefertigt und mit den verschiedenen Konjugaten beschichtet. Diese 3 Konjugatkontrollen pro Organ dienten dann für alle 6 Seren. Bei Pankreas, Herz und Skelettmuskel fielen sie durchweg negativ aus, während sie bei den Leberschnitten nach Inkubation mit Anti-IgA einzelne Hepatozyten mit schwacher zytoplasmatischer Grünfluoreszenz, nach Inkubation mit Anti-IgG dagegen eine schwache ringförmige Grünfluoreszenz um einzelne Hepatozyten zeigten.

Die Pankreaspräparate brachten folgende Ergebnisse:

Serum Nr. 4 (weibl., 58 Jahre, B<sub>1</sub> Rh+, IgM stark erhöht, akute Exazerbation) lagerte IgA derart am Pankreas ab, daß eine diffuse interstitielle Grünfluoreszenz von schwachem Ausmaß entstand. IgG war im Azinozyten-Zytoplasma feinkörnig gebunden, man könnte an eine Anlagerung an Enzymgranula denken. IgM, das in diesem Serum stark erhöht vorlag, zeigte eine unterschiedlich stark ausgeprägte Bindung an Azinozytenkerne, ebenso war

es in der periazinären Region abgelagert.

Die Reaktion an den Zellkernen konnten wir bei diesem Serum aber auch am Herzen (IgG und IgM), am Muskel (IgM) und an der Leber (IgA, IgG und IgM) zum Teil schwächer ausgeprägt beobachten.

Alle 6 mit Hilfe von Sektion 143/1981 untersuchten Seren zeigten immer wieder unterschiedliche Reaktionen mit verschiedenen Immunglobulinen an den Kernen von Pankreaszellen, aber auch von Herz-, Muskel- und Leberzellen. Möglicherweise liegt dies nicht nur an den Seren, sondern auch an spezifischen Eigenheiten des verwendeten Gewebes. Auf jeden Fall erhebt sich die Frage, ob es sich bei den Antikörpern, die an den Kernen dieser Zellen aus Pankreas, Herz, Muskel und Leber reagieren, um pankreasspezifische Antikörper oder um Kreuzreaktionen handeln kann.

Nicht alle dieser 6 Seren entsprachen in der Blutgruppe dem verwendeten Gewebe (Gewebe: Blutgruppe O Rh+/ Seren: Nr. 4: B<sub>1</sub> Rh+, Nr. 17: O rh-, Nr. 23: AB Rh+, Nr. 28: AB Rh+, Nr. 29: O rh-, Nr. 31: AB Rh+). Es ist aber schon geschildert worden, daß in anderen Arbeiten durch Verwendung von Blutgruppe O-Gewebe falsch positive Ergebnisse, die auf Unverträglichkeiten von Blutgruppenfaktoren beruhen könnten, ausgeschlossen werden konnten. Auch bei uns konnten in den angeschnittenen Blutgefäßen, wo solche Reaktionen am ehesten zu erwarten wären, keine Hinweise dafür entdeckt werden.

Serum 17 (männl., 40 Jahre, O rh-, Ig-Titer normal, chronisch kalzifizierende Pankreatitis) zeigte am Pankreas schwache diffuse interstitielle IgA-Ablagerungen (wie alle 6 Seren); IgG lagerte es ebenfalls diffus interstitiell ab, zum Teil kam es auch zu körnigen und grobstraßigen IgG-Ablagerungen im Interstitium. IgM ergab hier keine Reaktion, die Pankreaskontrollen waren negativ. Bei den Herzmuskelschnitten zeigten sich IgG und IgM an Kerne gebunden, beim Skelettmuskel war IgG in geringem Ausmaß an einzelnen Kernen zu sehen, in den Leberpräparaten fanden wir IgA und IgG mäßig bis stärker an Kerne gebunden.

Hierbei ist festzustellen, daß dieses Serum nicht an den Kernen von Pankreaszellen, wohl aber an den Kernen der 3 Kontrollorgane reagierte. Es stammte von einem Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis und normalen Ig-Titern, die Reaktionen am Pankreas beschränkten sich aufs Interstitium.

Serum Nr. 23 (weibl., 35 Jahre, AB Rh+, IgM mittelgradig erniedrigt, akute Exazerbation) war das einzige Serum aus der Untersuchungsgruppe, das eine Erniedrigung einer der 3 getesteten Ig-Klassen aufwies. IgM war mittelgradig erniedrigt, obwohl die betreffende 35jährige Patientin gerade einen akuten Schub einer chronischen Pankreatitis durchmachte.

An die Pankreasschnitte band dieses Serum IgA in der Weise, daß es zu einer schwachen diffusen interstitiellen Grünfluoreszenz kam. IgG war an Azinozytenkerne gebunden, die dadurch hervorgerufene Grünfluoreszenz des gebundenen Konjugats war deutlich. Mit IgM ergab sich wieder eine schwache, diffuse interstitielle Grünfluoreszenz, vereinzelt waren IgM-Antikörper aus diesem Serum, in dem IgM ja erniedrigt war, auch an Azinozytenkerne gebunden.

Es läßt sich keine Auffälligkeit in dem Reaktionsverhalten dieses Serums erkennen, die auf das Vorliegen einer akuten Exazerbation der chronischen Pankreatitis bei der betreffenden Patientin zurückzuführen sein könnte, etwa ein besonders kräftiges und deutliches Reagieren am Pankreas.

Auch dieses Serum bot Reaktionen an den Kontrollorganen. So waren IgG und IgM vereinzelt an Herz-, Muskel- und Leberzellkerne gebunden, während auf den Leberpräparaten IgG auch noch perizellulär abgelagert war. Es ist aber schon geschildert worden, daß die Leber-Anti-IgG-Konjugatkontrolle für diese 6 Seren ebenfalls eine schwache ringförmige Grünfluoreszenz um einzelne Hepatozyten bot. So ist diese Grünfluoreszenz, wahrscheinlich nicht auf Antikörper aus dem Patientenserum zurückzuführen.

Serum Nr. 28 (männl., 35 Jahre, AB Rh+, IgG mittelgradig erhöht, chronisch rezidivierende Pankreatitis) zeigte auf den

Pankreaspräparaten mäßiggradig herdförmig im Interstitium abgelagertes IgA.

IgG-Antikörper (IgG im Serum erhöht) sind in allen Abschnitten des entsprechenden Präparates in unterschiedlicher Ausprägung periazinär abgelagert. IgM-Antikörper konnten wir nicht finden. Dieses Serum bot wie Nr. 17 keine Reaktionen mit Kernen von Azinozyten, wohl aber mit den Kernen der Kontrollorganzellen. So band es in schwachem Ausmaß IgA und IgG an einzelne Herzmuskelzellkerne ebenso wie an einzelne Leberzellkerne, die Skelettmuskelpräparate blieben negativ.

Dieses Serum zeichnete sich also durch erhöhte IgG-Werte und pankreasspezifische Reaktionen, nämlich Ablagerung in der Umgebung der Azini aus. Solche Ablagerungen sind, wie schon mehrfach erwähnt, auch von NIZZE (1978) gezeigt worden, und auf Reaktionen von pankreasenzymspezifischen Antikörpern zurückgeführt worden.

Serum Nr. 29 (männl., 29 Jahre, 0 rh-, IgG stark und IgM mittelgradig erhöht, chronische Pankreatitis mit Pseudozyste) bietet wie die anderen 5 Seren in den Pankreaspräparaten eine schwache, diffuse interstitielle Grünfluoreszenz bei der Untersuchung auf IgA. Die Reaktion des Serums mit IgG, das ja stark erhöht war, sieht wie folgt aus:

Wir konnten es an nahezu allen Azinozytenkernen nachweisen, wo es mit Konjugat zu einer mäßiggradigen Grünfluoreszenz führte. Weiterhin fanden wir eine grobsträbige peri- und intraazinäre Fluoreszenz, also Ablagerung von IgG an Strukturen in den Azini.

Diese Ergebnisse können deutlich für eine Bindung von IgG-Antikörpern aus Serum Nr. 29 an enzymatische, antigenträgende Strukturen aus dem untersuchten Pankreasgewebe sprechen, zumal die entsprechenden Kontrollen negativ sind. Auch das mittelgradig erhöht vorliegende IgM reagierte auf dem Pankreasschnitt, wir fanden es so an die Kerne gebunden, daß es zu einer mittelstarken Grünfluoreszenz kam.

An den Kontrollorganen reagierte dieses Serum mit IgG an Herz- und Skelettmuskelzellkernen, IgA fanden wir auf den Skelett-

muskelschnitten an Zellgrenzen, auf den Leberschnitten interstitiell abgelagert.

Schließlich sei Serum Nr. 31 (männl., 40 Jahre, A3 Rh+, IgA mittelgradig erhöht, chronisch rezidivierende Pankreatitis) besprochen.

Auch dieses Serum bot durch IgA bedingte diffuse interstitielle Grünfluoreszenz auf dem entsprechenden Pankreasschnitt, wobei sich kein Unterschied zu den 5 übrigen Seren ohne IgA-Erhöhung herauskristallisierte.

Mit IgG kam es bei dem Pankreaspräparat zu einer unterschiedlich starken Grünfluoreszenz der Kerne, das Zytoplasma war generalisiert schwach positiv, zum Teil fanden wir auch grobsträßige interstitielle Ablagerungen. IgM reagierte auch hier wie bei Serum 28 nicht mit dem Pankreas.

Bei den Kontrollorganpräparaten zeigte Serum Nr. 31 in geringem Maße IgA und IgG an einzelne Herzmuskelzellkerne gebunden, an Skelettmuskelzellkernen fanden wir IgM, während IgG an Skelettmuskelzellgrenzen zu sehen war.

An der Leber reagierte das Serum nicht mit IgA, während IgG zu einer unterschiedlich starken Grünfluoreszenz der Zellkerne führte und auch IgM an einzelnen Kernen nachgewiesen werden konnte.

Betrachten wir nun diese zuletzt besprochenen 6 Seren zusammenfassend, so fällt auf, daß sie erstens mit IgA alle in ähnlicher Weise auf den Pankreaspräparaten reagierten und zweitens alle an den Kontrollorganen meist zwar nur schwach nukleär reagierten, wobei aber die Seren Nr. 17 und Nr. 28 im Gegensatz zu den anderen 4 Seren nicht auch an Azinozytenkernen Immunglobuline abgelagerten.

Außer diesen nukleären Reaktionen finden sich periazinäre, intraluminale, interstitielle und zytoplasmatische Immunglobulin-Ablagerungen der verschiedenen Seren.

Auch diese 6 Seren zeigten also alle Reaktionen an pankreasspezifischen Strukturen, die in dieser Weise an den Kontrollorganen nicht zu beobachten waren, denn an Herz, Muskel und

Leber konnten wir außer den erwähnten nukleären Ig-Ablagerungen keine Reaktionen feststellen.

Die ähnlichen Verhaltensweisen dieser 6 Seren auf Pankreas-schnitten mit IgA deuten darauf hin, daß die Reaktionen vom verwendeten Gewebe nicht unabhängig sind. Daß die im Interstitium nachgewiesenen IgA-Antikörper von dem Pankreasgewebe selbst sezerniert worden waren, ist nicht möglich, da sie sonst auch in der Anti-IgA-Konjugatkontrolle zur Darstellung hätten kommen müssen. Wieso aber alle 6 Seren IgA im Pankreasinterstitium ablagerten, ist unklar. Histologisch wies das verwendete Pankreas der Sektion 143/981 eine interstitielle Lipomatose und Fibrose auf, was aber auch bei anderen verwendeten Pankreaten der Fall war, wo sich solche Ähnlichkeiten in den Ergebnissen nicht einstellten.

Die übrigen Reaktionen dieser Seren, wie periazinäre, intraluminale und zytoplasmatische Ablagerungen hauptsächlich von IgG könnten vor allem wieder dafür sprechen, daß sich Antikörper gegen exokrine Pankreasenzyme richten.

Die Ergebnisse der Untersuchungsgruppe sind einerseits in Tab. 7 zusammengefaßt, in Tab. 10 werden ferner die Lokalisationen der Reaktionen und die abgelagerten Immunglobulinklassen für die Pankreaspräparate dargestellt.

#### 5.4.3. Besonderheiten bei Seren mit Immunglobulinerhöhungen bzw. bei Seren von Patienten mit kalzifizierenden oder akut exazerbierten Pankreatitiden

In unseren Seren der Untersuchungsgruppenpatienten mit klinisch gesicherten chronischen Pankreatitiden konnten bei den Fällen, die sich durch Kalzifizierung auszeichneten oder sich gerade in akuten Schüben befanden, keine auffällig hohen Ig-Titer gefunden werden.

Im Gegenteil wiesen 7 von 8 Seren der Patienten mit Kalzifi-

zierungen normale Antikörper-Titer auf, nur eines (Nr. 22) zeigte starke IgA-Erhöhung. Von den Seren der 5 Patienten mit akuten Exazerbationen waren ebenfalls 5 mit den Ig-Titern im Normbereich, während eines (Nr. 4) stark erhöhten IgM-Titer bot. Andererseits wiesen 7 der 14 Seren von Patienten mit chronisch (rezidivierenden) Pankreatitiden Erhöhungen verschiedener Immunglobuline auf.

So konnten wir im Gegensatz etwa zu DANI et al. (1974), die bei 11 von 12 Patienten mit chronisch kalzifizierenden Pankreatitiden erhöhte Serumwerte von IgA und IgM nachwiesen, keine besonderen Assoziationen zwischen Kalzifizierungen oder akuten Schüben und hohen Ig-Serumwerten finden.

Alle 27 Untersuchungsseren zeigten aber positive Reaktionen in verschiedener Weise an den Pankreasschnitten, also auch diejenigen, deren Immunglobulin-Titer im Normbereich lagen.

LENDRUM und WALKER (1975) konnten bei Seren von Patienten mit chronischen Pankreatitiden keine Pankreasantikörper nachweisen, während jedoch bei 21 von 61 Seren von Patienten mit akuten Pankreatitiden Bindungsfähigkeit an homologes Pankreas gefunden wurde.

Andererseits fanden SCHWARZMANN und JULIEN (1960) bei 80 % aller Patienten mit chronischer und chronisch kalzifizierender Pankreatitis Pankreasantikörper, eine Zahl, die der von THAL, MURRAY und EGNER (1959, 1960) ähnlich ist.

In unseren Untersuchungen wiesen 9 von 27 Patienten mit chronischen Pankreatitiden Ig-Erhöhungen in ihren Seren auf, alle 27 Seren reagierten aber mit homologem Pankreas.

Die Seren von Patienten mit akuten Pankreatitisschüben, mit Kalzifizierungen oder Immunglobulinerhöhungen unterscheiden sich dabei meist nicht von den Seren der Patienten ohne diese Parameter.

Die wesentlichen Besonderheiten werden hier zusammengefaßt:

So bietet Serum Nr. 5, das sich durch mittelgradige IgA-Erhöhung auszeichnete, deutliche Reaktionen von IgA an Granula in den Azinozyten, sowie an den Außenseiten und Zellmembranen

der Pankreaszellen. Auch an Kernen von Azinozyten konnten wir IgA aus diesem Serum nachweisen.

Serum Nr. 4 stammte von einer Patientin mit akuter Exazerbation, die auch einen erhöhten IgM-Titer hatte. Es war dies übrigens das einzige der 5 Seren von Patienten mit akuten Schüben, das eine Immunglobulinerhöhung aufwies. Das erhöht vorliegende IgM wurde bei diesem Serum an periazinäre Strukturen und an Azinozytenkerne angelagert, während IgA interstitiell und IgG zytoplasmatisch reagierten. Serum Nr. 4 war das einzige von 6 Seren, die auf Präparaten der Sektion 143/1981 untersucht wurden, das mit IgM periazinär reagierte.

Serum Nr. 29 gehörte ebenfalls dieser Gruppe an. Es wich insofern von den übrigen Seren ab, als es bei starker IgG- und mittlerer IgM-Erhöhung mit diesen Immunglobulinen im Vergleich zu den anderen Seren besonders deutliche Reaktionen hervorrief. So lagerte es IgG periazinär, intraazinär und nukleär, IgM nur nukleär ab.

Das Serum Nr. 23, das trotz akuter Exazerbation bei der betreffenden Patientin sogar einen mittelgradig erniedrigten IgM-Titer aufwies, reagierte mit IgM am Pankreas nukleär und interstitiell. Manch andere Seren zeigen mit ihren erhöht vorliegenden Immunglobulinen nur schwache Reaktionen (z.B. Serum Nr. 31, IgA erhöht, reagiert am Pankreas nur interstitiell).

So können wir zusammenfassend feststellen, daß sich einerseits die Seren der Patienten aus der Untersuchungsgruppe, die sich durch Kalzifizierungen ( $n = 8$ ) oder gerade stattfindende akute Schübe ( $n = 5$ ) von der Untersuchungsgruppe mit chronisch (rezidivierenden) Pankreatitiden ohne diese Kriterien ( $n = 14$ ) abheben, in ihrem Reaktionsverhalten am Pankreas nicht wesentlich unterscheiden, und daß andererseits die Seren mit Immunglobulinerhöhungen ( $n = 9$ ), die im wesentlichen von Patienten mit chronisch (rezidivierenden) Pankreatitiden gestellt werden ( $n = 7$ ), ebenfalls keine besonders kräftigen Reaktionen im Vergleich zu anderen Seren pankreatitiskrankter Patienten ohne Ig-Erhöhrungen zeigen. Ausnahmen sind die 3 vorgestellten Seren

Nr. 4, 5 und 29, die mit den erhöhten Ig-Klassen deutlichere Reaktionen als die Vergleichsseren bringen.

Die Tatsache, daß alle 27 Untersuchungsgruppenseren unabhängig von Kalzifizierungen, akuten Schüben oder Ig-Erhöhungen Bindungsvermögen an homologes Pankreas aufwiesen, spricht dafür, daß bei allen 27 Patienten an immunologische Beteiligungen bei der Genese ihrer chronischen Pankreatitis gedacht werden muß. Eine besondere Stärke dieser Beteiligungen bei akuten Schüben oder kalzifizierenden Pankreatitiden konnten wir nicht finden.

#### 5.4.4. Immunfluoreszenzreaktionen der Kontrollseren

Alle 5 Kontrollseren (Nr. 1a - 5a) wurden analog den Seren von Patienten mit Pankreatitis auf Pankreasschnitten untersucht, nämlich auf Präparaten des Sektionsfalles 146/1981 sowie auf Pankreasschnitten von 151/1981.

Bei den Präparaten von 151/1981 waren sämtliche Pankreasschnitte völlig negativ, es zeigte sich keinerlei Ig-Bindung an irgendwelche Pankreasstrukturen.

Auf 146/1981 war im Präparat Kontrollserum Nr. 2a + Anti-IgM lediglich in einem einzigen Lobulus des Pankreasschnittes eine sehr schwache zytoplasmatische Grünfluoreszenz zu sehen, die wohl nicht auf einer spezifischen Reaktion dieses Serums mit dem Pankreasschnitt beruhte.

Von 146/1981 wurden auch Schnitte der Kontrollorgane angefertigt. Dabei konnten wir bei den Kontrollseren ähnliche Reaktionen beobachten wie in der Untersuchungsgruppe an den Kontrollorganen Herz, Skelettmuskel und Leber.

So konnten wir Reaktionen aller Seren mit IgG an Herzmuskelzellkernen beobachten, Nr. 4a reagierte dort auch mit IgM. Auch Darstellungen der Zellgrenzen der Herzmuskulatur traten auf.

Ähnliches galt für die Untersuchungen der Kontrollseren auf den

Skelettmuskelschnitten, wo ebenfalls, hier mit IgA und IgG, Kerne im Interstitium und Zellaußenseiten dargestellt wurden. An der Leber zeigten sich verschiedene zytoplasmatische und nukleäre IgA- und IgG-Ablagerungen, auch hier kamen bei ausschließlich mit Konjugaten (Anti-IgA) beschichteten Präparaten Zellaußenseiten zur Darstellung.

Ansonsten sind die Kontrollpräparate der Kontrollorgane negativ (s. Tab. 8), so daß die positiven Darstellungen sicherlich auf Antikörper aus den Seren zurückgeführt werden können.

Die Seren der Kontrollgruppe, die von Patienten ohne Pankreaserkrankungen entnommen worden waren, zeigten also an den Kontrollorganen ähnliche Reaktionen wie die Seren der Patienten mit chronischer Pankreatitis. Sie wiesen jedoch im Gegensatz zu diesen keinerlei Bindungsvermögen am Pankreas auf.

Dies spricht dafür, daß es sich in der Untersuchungsgruppe bei den auf Pankreasschnitten nachgewiesenen Immunglobulinen um pankreasspezifische Antikörper handelt, die im Zusammenhang mit der chronischen Pankreatitis der Patienten zu sehen sind.

Selbst die wegen ähnlicher Reaktionen an den Kontrollorganen entstandenen Zweifel an der Pankreasspezifität derjenigen Antikörper, die sich an Azinozytenkernen anlagerten, können durch die Tatsache entkräftet werden, daß die Kontrollseren ebenfalls Immunglobuline an Kerne der Kontrollorgane, nicht aber an Pankreaszellkerne banden.

### 5.5. Schlußfolgerung

Wir konnten in unserer Untersuchungsgruppe von 27 Patienten mit chronischen Pankreatitiden (chronisch rezidivierenden Pankreatitiden:  $n = 14$ ; chronisch kalzifizierenden Pankreatitiden:  $n = 8$ ; akuten Exazerbationen chronischer Pankreatitiden:  $n = 5$ ) 9 Seren mit Immunglobulinerhöhungen, eines mit IgM-Erniedrigung finden.

Immunglobulinerhöhungen traten dabei am häufigsten bei den chronisch rezidivierenden Pankreatitiden auf, die weder durch Kalzifizierungen noch durch gerade ablaufende Exazerbation auffielen. Die kalzifizierenden oder akut exazerbierten Pankreatitiden zeigten eher keine besondere Korrelation mit Immunglobulinerhöhungen. So wiesen 7 von 14 Patienten mit chronisch rezidivierender Pankreatitis Immunglobulinerhöhungen auf, einer von 8 Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis und einer von 5 Patienten mit akuten Exazerbationen.

Unabhängig von Kalzifizierungen, akuten Exazerbationen oder im wesentlichen auch von Immunglobulinerhöhungen zeigten alle 27 Seren spezifische Reaktionen auf homologem Pankreas. Diese Reaktionen zeigten sich in Form von Zellgrenzen oder Querstreifen, z.B. bei Herz oder Muskel, zu beobachten, auch nukleäre Reaktionen konnten gefunden werden.

Bei den 5 Seren einer Kontrollgruppe von Patienten ohne Pankreaserkrankung fanden wir kein Bindungsvermögen an pankreatische Strukturen. Wohl reagierten diese Seren aber ähnlich den Untersuchungsseren an den Kontrollorganen, nämlich mit ebenfalls zytoplasmatischen und nukleären Ig-Ablagerungen oder Depositen an Zellgrenzen. Dies kann als weiterer Beweis für die Pankreasspezifität der auf den Pankreasschnitten nachgewiesenen Antikörper der Untersuchungsgruppe gelten.

Die Reaktionen der 27 Untersuchungsseren auf homologem Pankreas spielten sich größtenteils mit IgA (7mal) und IgG (7mal), etwas weniger auch mit IgM (4mal) periazinär ab, wobei die Deposite

z.T. membrangebunden waren (siehe z.B. Abb. 1, 2, 4, 5, 6, 9).

Danach folgten zytoplasmatische Reaktionen (3mal mit IgA, 6mal mit IgG, 6mal mit IgM) und nukleäre Ablagerungen (3mal IgA, 7mal IgG, 5mal IgM).

Interstitielle Antikörperablagerungen waren 7mal auf IgA, 5mal auf IgG und 2mal auf IgM zurückzuführen.

Periazinozytär fanden wir 6mal IgA, 4mal IgM und 3mal IgG.

An Granula im Azinozytenzytoplasma gebunden wiesen wir 1mal IgA und 5mal IgG nach, innerhalb der Azini erschienen 2mal IgA, 2mal IgG und 2mal IgM. Auch in den Lichtungen von Ausführungsgängen fanden wir 2mal IgA, 1mal IgG und 2mal IgM.

Weniger häufig waren Reaktionen an Zellaußenseiten (1mal IgA, 2mal IgM) und Zellmembranen (2mal IgA), perinukleäre Ablagerung fanden wir 1mal von IgG und 1mal von IgA. In einem Fall führte IgA-Ablagerung zu azinärer Grünfluoreszenz.

Am häufigsten waren also Bindungen von IgG, nämlich 37mal, danach folgten IgA mit 36 Reaktionen und IgM mit 27 Ablagerungen.

Diese Ergebnisse, vor allem die häufigen Darstellungen periazinärer, periazinozytärer, granulärer, zytoplasmatischer und intraluminaler Strukturen könnten dafür sprechen, daß es sich bei den nachgewiesenen antigenen Strukturen z.B. um Zymogengranula, sich in der Sekretion befindliche, bereits sezernierte exokrine Pankreasenzyme und Azinozytenmembranen handeln könnte.

NIZZE (1978) fand ähnliche Ergebnisse bei Beschichtung von Pankreaten mit Antiseren gegen exokrine Pankreasenzyme.

Ferner wiesen wir in verschiedenen Fällen spezifische Darstellungen von Zellmembranen und Zellaußenseiten nach. Bei verschiedenen Autoren (NIZZE, 1978; FREYTAG und KLÖPPDEL, 1969; SEELIG und SEELIG, 1975 und 1976) wurde beschrieben, wie primäre Läsionen an Gefäßwänden oder Azinozytenbasalmembranen etwa über Komplementaktivierung zu exkalierenden Pankreatitiden führen könnten.

Über die bei uns ebenfalls häufigen nukleären Reaktionen an den Pankreaspräparaten ist schon gesagt worden, daß ebensolche Ig-Ablagerungen oft auch an den 3 Kontrollorganen anzutreffen waren. Andererseits wiesen die 5 Seren der Kontrollgruppe (Patienten ohne Pankreaserkrankung) ebenfalls nukleäre und andere Reaktionen an den 3 Kontrollorganen auf, nicht aber am Pankreas. So kann dennoch angenommen werden, daß die Reaktionen der Untersuchungsseren an Pankreaszellkernen mit der Pankreaserkrankung der entsprechenden Patienten in Zusammenhang stehen. Unsere Ergebnisse sprechen in erster Linie dafür, daß in den Seren von Patienten mit chronischen Pankreatitiden auch ohne Ig-Erhöhen und unabhängig von gerade statthabenden akuten Exazerbationen oder abgelaufenen Kalzifizierungen Antikörper enthalten sind, die sich vor allem gegen exokrine Pankreasenzyme und Zellmembranen von Azinocyten richten. Es können sich also trotz scheinbar normaler Ig-Serumwerte Antikörper gegen Strukturen des Pankreasgewebes nachweisen lassen. Wir haben gezeigt, daß sich z.T. innerhalb eines Organes verschiedene Immunglobuline an verschiedenen Stellen und andererseits wieder an nahezu identischen oder ähnlichen Stellen ablagern.

FRIEMEL et al. (1975) wiesen die Existenz verschiedener organspezifischer Pankreasproteine, Antigene, Antikörper und zelluläre Immunitätsmechanismen bei verschiedenen Pankreatitisformen nach, und hielten daher immunologische Tests bei der Diagnosestellung von Pankreaserkrankungen für sinnvoll.

Auch unsere Ergebnisse veranlassen uns zu dem Schluß, daß das Serum eines jeden Patienten, bei dem Verdacht auf chronische Pankreatitis besteht, mittels Immunfluoreszenzmikroskopischer Methoden an normalem Pankreasgewebe auf seinen Gehalt an Anti-Pankreas-Ig geprüft werden sollte.

Wie es durch Vermittlung solcher Immunglobuline zu Schäden am Pankreas kommen kann, ist in der Besprechung der Immunpathologie des exokrinen Pankreas unter anderem durch Arbeiten von SEELIG und SEELIG (1975 und 1976) und NIZZE (1978) gezeigt worden.

Bei der Diskussion der Arbeiten von THAL, MURRAY und EGNER (1959 und 1960) erläuterten wir, daß diese Autoren bei vielen chronischen Pankreatitiden Antikörper gegen isoliertes Pankreas finden konnten, aber nur in einem Fall nach einer distalen Pankreatektomie bei einem Patienten der Nachweis echter Pankreas-Autoantikörper möglich war.

Die von uns beschriebenen Antikörper sind alle Iso-Antikörper. Wir hatten keine Gelegenheit, sie gegen autologes Material (etwa nach einer Pankreasoperation) zu testen. Ob sie daher autolog wirksam wären, können wir nicht entscheiden.

Oben haben wir die Kriterien geschildert, die nach NOSSAL (1972) eine Krankheit erfüllen muß, um als Autoimmunerkrankung zu gelten. Danach müßte z.B. neben Lymphozyten- und Plasmazellansammlungen in den betreffenden Organen, Besserung des Zustandes des Patienten durch Immunsuppressiva oder familiärer Häufung von Autoaggressionsphänomenen vor allem die Gesamtmenge des Immunglobulins in dem Serum des Patienten weit oberhalb der Normgrenze liegen.

Dies steht im Widerspruch zu unseren Ergebnissen, wo auch die Seren ohne Immunglobulinerhöhungen alle Bindungsvermögen an homologem Pankreas hatten, also alle spezifische Pankreasantikörper enthielten.

Sicherlich können wir daher bei allen unseren Patienten an immunologische Beteiligungen an ihren Pankreaserkrankungen denken. Es sei aber hier nochmals NOSSAL (1972) zitiert:

"Immunobiology is a branch of science, in which the expression  
>final proof< must be used with even greater caution than usual".

So können wir hier nicht endgültig entscheiden, ob die von uns gefundenen Antikörper als primärer, die chronische Pankreatitis auslösender Kausalitätsfaktor betrachtet werden dürfen, oder ob sie als Folge oder Begleiterscheinung einer schon vorher bestehenden Pankreaserkrankung entstanden sind.

## 5.6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden die Immunglobulin-Titer (von IgA, IgG und IgM) in den Seren von Patienten mit klinisch gesicherten chronischen Pankreatitiden sowie eventuelle Bindungsfähigkeiten dieser Seren bzw. der in ihnen enthaltenen Immunglobuline an normales, nicht pathologisch verändertes homologes Pankreasgewebe im Hinblick auf immunpathologische Beteiligungen im Verlauf chronischer Pankreatitiden, insbesondere der sogenannten idiopathischen chronischen Pankreatitiden, geprüft.

Dazu werden in den Seren von 27 Patienten der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen (Direktor: Prof. Dr. DEMLING) mit klinisch gesicherter chronischer Pankreatitis (14 Patienten mit chronisch (rezidivierenden) Pankreatitiden, 3 Patienten mit chronisch kalzifizierenden Pankreatitiden und 5 Patienten mit akuten Exazerbationen chronischer Pankreatitiden) und als Kontrollgruppe von 5 Patienten ohne Pankreaserkrankung die Titer von IgA, IgG und IgM mittels der Lasernephelometrie bestimmt.

Anschließend werden alle Seren aus Untersuchungs- und Kontrollgruppe auf Gefrierschnitten von Pankreas und zur Kontrolle der Organspezifität auch auf Kryostatschnitten von Herz, Skelettmuskel und Leber mit dem Verfahren der indirekten Immunfluoreszenz auf die Bindungsfähigkeit in ihnen enthaltener IgA-, IgG- und IgM-Antikörper untersucht. Diese drei Immunglobulin-Klassen werden auf getrennten Schnitten mit Hilfe von FITC-markierten Anti-Human IgA-, IgG- und IgM-Kaninchenserum dargestellt. Zur Kontrolle der Spezifität der nachgewiesenen Antikörper werden neben den bereits erwähnten Präparaten der drei Kontrollorgane Nativschnitte, nur mit Patientenserum beschichtete Schnitte und Konjugatkontrollen für jedes Serum mit jeweils allen 4 Organen angefertigt.

Zur Vermeidung falsch positiver Reaktionen werden Organe von Individuen der den Seren entsprechender Blutgruppe oder der Blutgruppe O Rh positiv verwendet.

Die Schnitte von Pankreas, Herzmuskel, Skelettmuskel und Leber werden aus Organen von Sektionsfällen des täglichen Routinebetriebes des Pathologischen Instituts der Universität Erlangen gefertigt. Die Gewebestücke, insbesondere die des Pankreas, werden nur aus nicht pathologisch veränderten Organen, und jeweils aus dem besterhaltenen Teil des Organs während der Sektion entnommen.

Bei der Untersuchung der Ig-Titer in den Seren der Untersuchungsgruppe im Institut für Klinische Immunologie und Rheumatologie der Universität Erlangen (Direktor: Prof. Dr. KALDEN) ergeben sich bei 9 von 27 Patienten Ig-Erhöhungen, eine Patientin mit akuter Exazerbation einer chronischen Pankreatitis weist bei normalen IgA- und IgG-Werten einen erniedrigten IgM-Titer auf.

Es zeigt sich, daß in der Untersuchungsgruppe die Fälle von chronisch (rezidivierenden) Pankreatitiden ( $n = 14$ ) die meisten Seren mit Ig-Erhöhungen stellen, nämlich 7. Von den Seren der 8 Patienten mit chronisch kalzifizierenden Pankreatitiden zeigt nur eines isolierte IgA-Erhöhung (Nr. 22), bei den Seren der 5 Patienten mit akuten Exazerbationen ist in einem Fall IgM erhöht (Nr. 4), in einem anderen Fall ist IgM sogar erniedrigt.

Bei den 7 Seren der Patienten mit chronisch (rezidivierenden) Pankreatitiden, die Ig-Erhöhungen aufweisen, zeigen sich 3mal isolierte IgA-, 1mal IgG-, 1mal IgM-, 1mal IgA- und IgG- und 1mal IgG- und IgM-Erhöhungen.

Wir können also keine Korrelation zwischen gerade stattfindenden akuten Exazerbationen oder Kalzifizierungen mit besonders hohen Ig-Titern finden, im Gegenteil stellen die Seren der chronischen Pankreatitiden ohne Kalzifizierungen oder akute Schübe den größten Anteil an den Fällen mit Ig-Erhöhungen.

In der 5 Seren umfassenden Kontrollgruppe (Patienten ohne Pankreaserkrankungen) zeigen sich eine IgA-Erhöhung, einmal eine Erniedrigung von IgG und IgM, 3 Seren sind normal (siehe Tab. 1, 2, 3, 6 und 9).

Bei den anschließenden indirekten Immunfluoreszenzuntersuchungen reagieren alle 27 Seren der Untersuchungsgruppe auf den Pankreasschnitten in verschiedener Weise, mehr oder weniger ausgeprägt an spezifischen Pankreasstrukturen, unabhängig davon, ob sie Ig-Erhönungen aufweisen oder nicht. Auch die Seren der Patienten mit Kalzifizierungen oder akuten Schüben unterscheiden sich nicht wesentlich von den 14 übrigen Seren der Untersuchungsgruppe mit chronisch (redividierenden) Pankreatitiden.

Die Reaktionen der 27 Seren am Pankreas spielen sich in erster Linie periazinär, z.T. membrangebunden ab (7mal mit IgA, 7mal mit IgG, 4mal mit IgM). Danach folgen zytoplasmatische Darstellungen von IgA (3mal), IgG (6mal) und IgM (6mal) sowie nukleäre Ablagerungen von IgA (3mal), IgG (7mal) und IgM (5mal).

Interstitielle Ig-Ablagerungen sind 7mal auf IgA, 5mal auf IgG und 2mal auf IgM zurückzuführen.

Periazinozytär gebunden finden wir 6mal IgA, 3mal IgG und 4mal IgM. An Granula im Azinozytenzytoplasma sind einmal IgA und 5mal IgG gebunden, innerhalb der Azini erscheinen 2mal IgA, 2mal IgG und 2mal IgM, auch in den Lichtungen von Ausführungsgängen sind 2mal IgA, 1mal IgG und 2mal IgM anzutreffen.

Weniger häufig sind rein lineare Reaktionen an Zellaußenseiten (1mal IgA, 2mal IgM) und Zellmembranen (2mal IgA). Perinukleäre Ablagerungen finden wir 1mal von IgG und 1mal von IgA. In einem Falle führt IgA-Ablagerung zu azinärer Grünfluoreszenz (Tab. 7, 8 und 10).

Die Kontrollpräparate des Pankreas (Nativschnitte, ausschließlich mit Patientenserum beschichtete Schnitte und Konjugatkontrollen) sind im Wesentlichen negativ, so daß die beobachteten Reaktionen als spezifische, auf den Antikörpern aus den Patientenseren beruhende Geschehnisse betrachtet werden können.

Auch die Organspezifität der gefundenen Antikörper kann als sicher angenommen werden, da die Präparate der Kontrollorgane meist nur unspezifische Anfärbungen zeigen. Bei einigen Seren auch auf den Kontrollorganen nachgewiesene nukleäre Reaktionen lassen zumindest an der Organspezifität dieser nukleären Antikörper zweifeln.

Ähnliche unspezifische Reaktionen und nukleäre Ablagerungen an den Kontrollorganen finden wir jedoch auch bei den Seren der Kontrollgruppe (5 Patienten ohne Pankreaserkrankung), die aber auf den Pankreasschnitten absolut keine Bindungsfähigkeiten zeigen. So könnten auch die sich an Pankreaszellkerne bindenden, von uns nachgewiesenen Antikörper mit den Pankreaserkrankungen der betreffenden Patienten in Beziehung stehen.

Innerhalb der Untersuchungsgruppe bieten sich keine wesentlich unterschiedlichen Reaktionsverhalten (etwa besonders deutliche und kräftige Reaktionen) der Seren von Patienten mit akuten Exazerbationen oder mit Kalzifizierungen im Vergleich zu den Seren der Patienten mit chronischer Pankreatitis ohne diese Merkmale. Auch die 9 Seren mit Ig-Erhöhungen, die in 7 Fällen von Patienten mit chronisch (rezidivierenden) Pankreatitiden, in einem Fall von einem Patienten mit chronisch kalzifizierender Pankreatitis und einmal von einer Patientin mit einem akuten Schub einer chronischen Pankreatitis stammen, zeigen keine wesentlichen Auffälligkeiten. Lediglich bei 3 dieser Seren (Nr. 4, akute Exazerbation, IgM $\uparrow\uparrow$ ; Nr. 5, chronisch rezidivierende Pankreatitis, IgA $\uparrow$ ; Nr. 29, chronische Pankreatitis, Pseudozyste, IgG $\uparrow\uparrow$ ; IgM $\uparrow$ ) bieten vor allem die erhöhten Ig-Klassen pankreasspezifische Reaktionen, die sich in ihrer Intensität von vergleichbaren Seren ohne Ig-Erhöhung unterscheiden. Bei Serum Nr. 4 liegt dabei noch eine Verbindung von akuter Exazerbation mit IgM-Erhöhung vor.

Es ist festzustellen, daß alle 27 Seren der Untersuchungsgruppe im Gegensatz zu den 5 Seren der Kontrollgruppe unabhängig von Ig-Erhöhungen pankreasspezifische Bindungsfähigkeiten in ihnen enthaltener Antikörper aufweisen, daß Ig-Erhöhungen

in diesen Seren einerseits nicht mit akuten Exazerbationen oder Kalzifizierungen in Beziehung stehen, und daß andererseits die Seren mit Ig-Erhöhungen oder von Patienten mit akuten Exazerbationen oder Kalzifizierungen sich in ihrem Reaktionsverhalten am Pankreas nicht wesentlich von den Seren der chronischen Pankreatitiker ohne diese Kriterien unterscheiden.

Die Ergebnisse der Untersuchungsseren auf den Pankreasschnitten, insbesondere die häufige Darstellung periazinärer, periazinozytärer, granulärer, zytoplasmatischer, intraazinärer und intraluminaler Strukturen könnten dafür sprechen, daß es sich bei den nachgewiesenen antigenen Strukturen um Zymogengranula, sich in der Sekretion befindliche oder bereits sezernierte exokrine Pankreasenzyme handeln könnte. Ferner finden wir Immunglobulindeposite an Außenseiten und Membranen der Azinozyten, die dadurch ebenfalls als antigene Strukturen des Pankreas in Betracht gezogen werden müssen.

Ähnliche Ergebnisse erzielten FREYTAG und KLÖPPEL (1969), NIZZE (1978) sowie SEELIG und SEELIG (1975, 1976).

Aufgrund der Tatsache, daß alle unsere 27 Untersuchungen pankreasspezifische Bindungsfähigkeit unabhängig von der Höhe ihrer Ig-Titer zeigen, können wir annehmen, daß einerseits das Vorliegen von Iso- (bzw. Auto-) Antikörpern gegen Pankreasstrukturen nicht zwingend mit Ig-Erhöhungen verknüpft sein muß, und daß andererseits auch wegen der negativen Ergebnisse der Kontrollseren darauf geschlossen werden kann, daß bei den Pankreaserkrankungen unserer 27 Patienten immunologische Mechanismen eine Rolle spielen. Darin verwickelte Antikörper könnten sich vor allem gegen exokrine Pankreasenzyme und Zellmembranen der Azinozyten richten. Die von uns nachgewiesenen Antikörper werden auf homologem Material dargestellt, sie sind Iso-Antikörper. Ob sie auch auf autologem Material reagiert hätten, als echte Autoantikörper angesehen werden können, konnten wir wegen fehlenden autologen Gewebes nicht ergründen.

Ferner kann nicht entschieden werden, ob diese Antikörper als primärer, die Pankreaserkrankung auslösender Kausalitätsfaktor betrachtet werden können, oder ob sie als Folge oder Begleiterscheinung einer schon bestehenden Pankreatitis entstanden sind.

Nach DOERR (1953, 1959, 1961, 1964) und BECKER (1954, 1957, 1973, 1974) liegt Pankreatitiden zumeist ein Komplex an Störfaktoren zugrunde, die gleichzeitig wirkend eine Pankreatitis auszulösen vermögen. Möglicherweise stellt die Bildung von Antikörpern gegen Pankreasbestandteile einen dieser notwendigen Faktoren dar, der für sich allein zum Auslösen einer Pankreatitis nicht ausreicht, jedoch als ein essentieller Teilfaktor gelten kann.

Sicher lassen es die Ergebnisse unserer Untersuchungen sinnvoll erscheinen, das Serum eines jeden Patienten, bei dem Verdacht auf chronische Pankreatitis besteht, mittels immunfluoreszenzmikroskopischer Methoden an normalem Pankreasgewebe auf seinen Gehalt an Anti-Pankreas-Immunglobulinen zu prüfen. Hierdurch könnte einerseits die Problematik der Beteiligung immunpathologischer Mechanismen bei Entstehung und Verlauf chronischer Pankreatitiden in größerem Ausmaß beleuchtet werden, andererseits wären solche Untersuchungen diagnostische Hilfsmittel für den Kliniker.

6. Literatur

- ALLISON, A.C., A.M. DENNAN, R.D. BARNES:  
Cooperating and controlling functions of  
thymus-derived lymphocytes in relation to  
autoimmunity  
Lancet ii: 135-140, 1971
- AMMANN, R.W., B. HAMMER, I. FUMAGALLI:  
Chronic pancreatitis in Zurich, 1963-72,  
Clinical findings and follow-up studies of  
102 cases  
Digestion 9, 404-415, 1973
- AMMAN, R.: Die idiopathische "juvenile" chronische  
Pankreatitis  
Dtsch. Med. Wochenschrift, 101, 1789, 1976
- AMMAN, R., H. SULSER:  
Die "senile" chronische Pankreatitis, eine  
neue nosologische Einheit?  
Schweiz. Med. Wochenschrift, 106, 429, 1976
- ANTAL, L., et al.:  
Immunological investigations in acute and  
chronic human pancreatitis  
Digestion, 20 (2): 100-5, 1980
- ANTAL, L., et al.:  
Abnormalities in humoral and cellular immune  
activity in pancreatitis. I Study of the humoral  
immune system  
Acta Med. Acad. Sci. Hungariae, 35 (2): 69-79,  
1978  
II. Study of the cellular immune system  
Acta Med. Acad. Sci. Hungariae, 35 (2): 81-7,  
1978
- BACKWINKEL, K.-P., H. SCHADE, H. THEMANN:  
Vergleichende elektronenmikroskopische Unter-  
suchungen bei Struma lymphomatosa Hashimoto  
und experimenteller Autoimmunthyreoditis  
Beitr. path. Anat. 140, 362-377, 1970

- BANK, S., B.H. NOVIS, E. PETERSEN, E. DOWDLE, I.N. MARKS:  
Serum immunoglobulins in calcific pancreatitis  
Gut 14, 723-725, 1973
- BARK, C.J., S.L. PERZIK:  
Mikulicz's disease, sialoangiectasis, and  
autoimmunity based upon a study of parotid  
lesions  
Amer. J. clin. Path. 49, 683-689, 1968
- BAZIN, H.: The secretory antibody system  
in: Ferguson, A., R.N.M. Mac Sween (Edit.)  
Immunological aspects of the liver and gastro-  
intestinal tract  
MTP - The Garden City Press Limited Letchworth,  
Great Britain, 1976
- BARTHOLOMEW, C.: Acute scorpion pancreatitis in Trinidad  
Brit. Med. J., 1, 666, 1973
- BECKER, V.: Ödemstudien am Pankreas  
Verh. dtsch. Ges. Path. 38, 210, 1954
- BECKER, V.: Sekretionsstudien am Pankreas  
Stuttgart, Thieme 1957
- BECKER, V.: Bauchspeicheldrüse  
In: Doerr, W., G. Seifert, E. Ühlinger:  
Spezielle Pathologische Anatomie, Band 6,  
Berlin, Heidelberg, New York, Springer 1973
- BECKER, V.: Die morphologische Reaktionsweise der Bauch-  
speicheldrüse bei nichtpankreatischen Erkrank-  
ungen  
Inn. Med. 2, 122-130, 1974
- BIENENSTOCK, J.: The physiology of the local immune response  
and the gastrointestinal tract  
in: Brent, L.I. Molborow (Edit.)  
Progress in immunology, II. Vol. 4, I. Amster-  
dam, North-Holland Publishing Company, 1974
- BRENTJENS, J.R., D.W. O'CONNELL, B. ALBANI, G.A. ANDERS:  
Experimental chronic serum sickness in rabbits  
that received daily multiple and high doses of  
antigen: a systemic disease  
Ann. N.Y. Acad. Sci., 254, 603-613, 1975

- BUFFA, et al.: Complement-mediated binding of immunoglobulins to some endocrine cells of pancreas and gut  
J. of Histochemistry and Cytochemistry, Vol. 27, No. 9, pp. 1279-80, 1979
- BURNET, M. Sir: Auto-immunity and auto-immune disease  
Medical and Technical Publishing Co. LTD.  
The Garden City Press Limited Letchworth, Great Britain, 1973
- BURNET, M.: Körpereigene und Körperfremde Substanzen bei Immunprozessen  
Thieme, Stuttgart, 1973
- BURNET, M.: The clonal selection theory of acquired immunity  
Cambridge, 1956
- CHADWICK, C.S., M.G. McENTEGARD, R.C. NAIRN:  
Fluorescent protein tracers. A simple alternative to fluorescein  
Lancet I, 412-414, 1958
- COONS, A.H.: Histochemistry with labelled antibodies  
Int. Review Cytol. 5, 1956
- COONS, A.H.: Fluorescent antibodies methods  
In: General cytochemical methods, Vol. 1, ed. by J.F. Danielli, Academic Press, New York, 1958
- COONS, A.H.: Antibodies and antigens labelled with fluorescein  
Schweiz. Z. Path. Bakt. 22, 1959
- COONS, A.H.: The diagnostic application of fluorescent antibodies  
Schweiz. Z. Path. Bakt. 22, 1959
- COONS, A.H., H.J. CREECH, R.W. JONES:  
Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group  
Proc. Soc. exp. Biol. 47, 200-202, 1941
- COONS, A.H., H.J. CREECH, R.W. JONES, E. BERLINER:  
The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody  
J. Immunol. 45, 159-170, 1942

COONS, A.H., M.H. KAPLAN:

Localization of antigen in tissue cells  
II. Improvements in a method for the detection  
of antigen by means of fluorescent antibody  
J. exp. Med. 9, 1-13, 1950

DANI, R., L.J. AUTUNES, J.E.F. RIBEIRO, C.E.D. NOGUEIRA,  
T. RIBEIRO:

Immunological participation in chronic  
calcifying pancreatitis  
Digestion 11, 333-357, 1974

DOERR, W.: Pankreatitis, Pathogenese, Formen, Häufigkeit  
76. Tagung Dtsch. Ges. Chir., München, 1959

DOERR, W.: Pathogenese der akuten und chronischen  
Pankreatitis  
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 70, 718-758, 1964

DOERR, W.: Pathologisch-anatomische Untersuchungen zum  
Problem der Fermententgleisung im Pankreas  
Verh. dtsch. Ges. Path. 37, 292, 1953

DOERR, W., V. BECKER:

Über die experimentelle Erzeugung der trypti-  
schen Pankreatitis  
Therap. Ber. 33, 3, 1961

EDELMANN, R.: Cell-mediated immune response in protein-  
caloric malnutrition - a review  
in: Suskind, R.M. (Edit.): Malnutrition and  
the immune response  
Raven Press, New York 1977

EGEBERG, J., N. NERUP, O. ANDERSEN, G. BENDIXEN, M. KROMANN,  
R. GUNNARSSON, M. HELLERSTROEM, J.E. POULSEN:  
Morphology of experimental organ-specific  
insulinitis of the mouse pancreas  
Acta Endocrinol. (Kbh) 83, 133-150, 1976

EHRlich, P.: Fortschritt. Med. 15: 41 (1897)

FERGUSON, A.: Coeliac disease and gastrointestinal food  
allergy  
in: Ferguson, A., R.N.M. Mac Sween (Edit.)  
Immunological aspects of the liver and gastro-  
intestinal tract  
MTP - The Garden City Press Limited Letchworth,  
Great Britain 1976

- FISCHER, K.: Autoaggressionskrankheiten - Pathogenese und Immunologie  
Klin. Wschr. 45, 494-495, 1967
- FISCHER, R.: Allgemeine Immunologie und Immunpathologie  
In: Eder, M. und P. Gedigk (Edit.)  
Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie  
Berlin, Heidelberg, New York, 1977
- FONKALSRUD, E.W., W.P. LONGMIRE jr.:  
The occurrence of pancreatic antibodies and the experimental production of pancreatitis with pancreatic antiserum  
Surgery 50, 134-142, 1961
- FREYTAG, G., G. KLÖPPEL:  
Experimentelle Insulitis und Pankreatitis nach Immunseren gegen Pankreasextrakte verschiedener Reinheitsgrade  
Beitr. path. Anat. 139, 138-160, 1969
- FREYTAG, G., M. SCHAARSCMIDT, W. REICHEL:  
Tierexperimentelle immunologische Pankreas- und Inselveränderungen nach Insulinextrakten verschiedener Reinheitsgrade  
52. Tag. Dtsch. Ges. Path., 1968
- FRIEMEL, H., J. BROCK et al.:  
Immunologische Untersuchungen am Pankreas  
Zeitschrift für die ges. Innere Med. 30, 415-419, 1975
- GASTARD, J., F. JOUBAUD, T. FARDOS, J. LOUSSCUARN, J. MARION, N. PANNIER, F. REMAUDET, R. VALDAZO, M. GOSSELIN:  
Etiology and course of primary chronic pancreatitis in western france  
Digestion 9, 416-428, 1973
- GIBBONS, A., J.D. ALLAN, A. HOLZEL, H. MacFARLANE:  
Cell-mediated immunity in patients with cystic fibrosis  
Br. Med. J. 1, 120-122, 1976
- GREENE, E.L., S.P. HALBERT, D. KIEFER:  
Two pancreas "tissue-specific" antigens in normal human urine, one being an esterase  
Int. Arch. Allergy APPI Immunol. 48, 764-775, 1975

- HAFERKAMP, O.: Morphologie und Pathogenese der chronischen Pankreatitis  
Chirurg 39, 297-301, 1968
- HAFERKAMP, O.: Morphologie und Pathogenese der Autoaggressionskrankheiten  
Med. Welt, N.F. 22, 999-1003, 1970
- HOWAT, H.T.: Chronic pancreatitis  
in: Sarles, H. (Edit.)  
Pancreatitis  
Symp. Marseille 1963, Bibliotheca Gastroenterologica Fasc. 7. S. Karger, Basel, 1965
- HUMPHREY, J.H., R.G. WHITE:  
Kurzes Lehrbuch der Immunologie  
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1972
- JANIGEN, D.T., T.J. NEVALAINEN, M.A. MACAULAY, V.C. VETHAMANY:  
Foreign serum-induced pancreatitis in mice  
I. A new model of acute pancreatitis  
Lab. Invest. 33, 591-607, 1975
- JOUGSMA, A.P.M., W. HISMANS, J.S. PLOEM:  
Quantitative immunofluorescence - Standardization and calibration in microfluorometry  
Histochemie 25, 329-343, 1971
- KALLÓS, P., H.D. SCHLUMBERGER:  
Allergie und allergische Krankheiten  
Medizin von Heute im Tropon-Verlag Köln, 1978
- KEIDEL, W.D.: Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie  
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1979
- KORN, K.J.: Hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis durch lokales Shwartzman-Phänomen  
Ihre Abgrenzung von der tryptischen Pankreatitis  
Frankf. Z. Path. 73, 203-227, 1963
- KÖSSLING, F.K., K.H. MEYER zum BÜSCHENFELDE:  
Die Bedeutung von Autoantikörpern und Immunozyten bei experimenteller chronischer aktiver Hepatitis  
Verh. dtsch. Ges. Path. 53. Tag. 321, 1969
- LACY, P.E., P.H. WRIGHT:  
Allergic interstitial pancreatitis in rats injected with guinea pig anti-insulin serum  
Diabetes 14, 634-642, 1965

- LEVY, C.M., Th. CHEN, R. ZETZMAN:  
Alcoholic hepatitis, cirrhosis and immunologic reactivity  
Ann. N.Y. Acad. Sci. 252, 106-115, 1975
- LEWERT, P.: Etiology and pathogenesis of chronic pancreatitis  
Der Internist, Berlin, 20 (7), 321-30, 1979
- LENDRUM, R., G. WALKER:  
Serum antibodies in human pancreatic disease  
Gut 16, 365-371, 1975
- MacLENNAN, I.C.M., B. HANDEG:  
The role of immunoglobuline in lymphocyte mediated cell damage, in vitro. II.  
Immunology 18: 405-412, 1970
- McGIVRA, A.R., H.J.C. IRETON:  
Natural rabbit antibody against rodent pancreas  
Pathology 2, 293-301, 1970
- MESSER, M., R.T. DEAN:  
Immunochemical relationship between alpha-amylase of rat liver, serum, pancreas and parotid gland  
Bioch. J. 151, 17-22, 1975
- METZGAR, R.S.: Human pancreas-specific isoantigens  
Nature (London) 203, 660-661, 1964
- METZGAR, R.S.: Immunologic studies of pancreas-specific isoantigens  
The Journal of Immunology, Baltimore, 93, 176-182, 1964
- MIESCHKE, P.A.: Immunisierung gegen körpereigene Substanzen als Krankheitsursache  
I. Immunbiologische Mechanismen  
Umschau 21, 670-673, 1965  
II. Autoimmunkrankheiten  
Umschau 22, 703-707, 1965
- MURRAY, M.J., A.P. THAL:  
The clinical significance of circulating pancreatic antibodies  
Ann. intern. Med. 53, 548-555, 1960

- NAIR, M.B.: Pathological aspects of chronic pancreatitis  
In: Vakil, B.J. (Edit.)  
Chronic pancreatitis symposium 1972  
Indian society of gastroenterology, Bombay 1973
- NAKANE, P.K., A. KAWAOI:  
Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugation  
In: The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, Vol. 22, 1974
- NEHER, M., et al.:  
Immunopathological genesis of pancreatitides  
Langenbecks Arch. Chir., Suppl. 112-5, 1976
- NEVALAINEN, T.J.:  
Rabbit serum-induced injury in rat pancreas in vitro  
Exp. Path. 15, 67-73, 1978
- NEVALAINEN, T.J., F.E. FOWLIE, D.T. JANIGAN:  
Foreign serum-induced pancreatitis in mice II. Secretory disturbances of acinar cells  
Lab. Invest. 36, 469-473, 1977
- NEUMANN, Ch.G., E.R. STIEHM, M. SWENSEID, A.C. FERGUSON, G. LAWLOR:  
in: Suskind, R.M. (Edit.)  
Malnutrition and the immune response  
Raven Press, New York 1977
- NIZZE, H.:  
Experimental immune pancreatitis in the mouse by rabbit immune sera directed against purified enzymes of the exocrine pancreas  
Exp. Path. 15, 129-143, 1978
- NIZZE, H.:  
Experimentelle Fremdserumpankreatitis  
Zbl. allg. Path. 119, 294-302, 1975
- NOGALLER, A.M., et al.:  
Autoimmune disorders in pancreatitis  
Sov. Med.: (6), 25-9, 1981
- NOSSAL, G.J.V.: Die Regulation der Immunantwort  
Klin. Wschr. 47, 568-573, 1969
- NOSSAL, G.J.V.: Antikörper und Immunität  
Suhrkamp Verlag Frankfurt a.M., 1972

NOSSAL, G.J.V., G.L. ADA:

Antigens, Lymphoid cells, and the immune response  
Academic Press, New York and London, 1971

RICHMOND, M.H.: Enzyme-antiserum interactions of beta-lactamases

in: Salton, M.R.J.

Immunochemistry of enzymes and their antibodies  
J. Wiley and Sons, A. Wiley Medical Publication, N.Y., London, Sydney, Toronto 1977

RICHTER, K.: Experimentell immunpathologische Untersuchungen am exokrinen Pankreas der Ratte  
Verh. Dtsch. Ges. Path. 58, 518, 1974

RICHTER, K.: Einfluß des Reserpin auf das exokrine Pankreas der Ratte  
Verh. Dtsch. Ges. Path. 58, 571, 1974

RICHTER, K.: Immunsersum-induzierte Pankreatitis der Ratte  
Verh. Dtsch. Ges. Path. 62, 475, 1978

RICHTER, K.: Inflammatory lesions of exocrine pancreas of the rat following active immunization with isologous antigen  
XII. Congress of the International Academy of Pathology and the 3rd World Congress of Academic and Environmental Pathology, Jerusalem, Sept. 1978

RICHTER, K., H.-P. PUTZKE:

Der Einfluß des Äthionins auf das exokrine Pankreas der Ratte unter verschiedenen Fütterungsbedingungen  
Exp. Path. 6, 303-309, 1972

RICHTER, K., H.-P. PUTZKE, A. BIENENGRÄBER:

Histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Sekretionskinetik der Azinuszelle des Rattenpankreas im Hungerzustand  
Exp. Path. 5, 192-199, 1971

RIZZETTO, M., F. BONINO, G. VERNE:

Antibodies against the human pancreas in acute and chronic liver disease  
Ric. Clin. Lab. 5, 146-153, 1975

ROSS, M.H., E.J. REITH:

Atlas der Histologie und mikroskopischen Anatomie, übersetzt und herausgegeben von J.W. Rohen und E. Lütjen-Drecoll

- ROHEN, J.W.: Funktionelle Anatomie des Menschen  
Schattauer Verlag, Stuttgart New York, 1975
- ROHEN, J.W.: Topographische Anatomie  
Schattauer Verlag, Stuttgart New York, 1977
- ROSE, N.R.: Immunological specificity of the pancreas  
In: Grabar, P., P.A. Miescher (Edit.)  
Immunopathology: Proceedings of the IVth  
International Symposium 1965, Schwabe, Basel
- ROSE, N.R., R.S. METZGAR, E. WITEBSKY:  
Studies on organ specificity  
XI. Isoantigens of rabbit pancreas  
J. Immunol. 85, 575-587, 1960
- ROTTER, W.: Lehrbuch der Pathologie Band I - IV  
Schattauer Verlag, Stuttgart New York, 1973
- SANDRITTER, W., G. BENEKE:  
Allgemeine Pathologie  
Schattauer Verlag, Stuttgart New York, 1974
- SAMBIN, P., R. LEVRAT, M. GIRARD:  
Les angiopathies de la pancréatite chronique  
J. Méd. Lyon 52, 425-438, 1971
- SARDA, S., K.G. GUPTA:  
Antibody mediated injury to pancreas and  
susceptibility to infections  
Indian. J. Exp. Biol. 13, 527-531, 1975
- SARLES, H.: An international survey on nutrition and  
pancreatitis  
Digestion 9, 389-403, 1973
- SCHETTLER, G.: Innere Medizin, Band I und II  
Thieme Verlag, Stuttgart New York, 1980
- SCHÜTT, C., H. FRIEMEL, H.A. SCHULZE, G. ZUBAIDI:  
Specific lymphocyte sensitization in chronic  
pancreatitis  
Digestion 13, 308-311, 1975
- SCHÜTT, C., et al.:  
Immunostaging of patients with chronic  
pancreatitis  
I. A study of humoral and cell-mediated immunity  
Allergie und Immunologie, Leipzig, 26 (3):

SCHWARZMANN, V., C. JULET:

Mise en évidence d'anticorps antipancréas dans le sérum de malades atteints de pancréatite chronique et d'affections pancréatiques diverses  
Acta gastroenterologica belgica, Bruxelles, 23, 1008-1009, 1960

SEELIG, R., V. FUCHS, C. TSCHNIGG, H.P. SEELIG:

The serum complement system - a mediator of acute pancreatitis  
Virchows Arch. A, Path. Anat. and Histol. 365, 193-199, 1975

SEELIG, R., H.P. SEELIG:

The possible role of serum complement system in the formal pathogenesis of acute pancreatitis  
I. Immunopathogenetic pancreatitis - local Schwartzman-Sanarelli phenomenon - endotoxin induced pancreatitis

Acta Hepatogastroenterol. (Stuttgart) 22, 263-268, 1975

II. Cobra venom factor pancreatitis - sodium taurocholate and deoxycholate pancreatitis  
Acta Hepatogastroenterol. (Stuttgart) 22, 335-346, 1975

SEELIG, R., H.P. SEELIG:

Complement-mediated acinar cell necrosis in pancreatitis induced by basement membrane antibodies

Virchows Arch. Abt. A 371, 69-77, 1976

SILA, J., N. ULMAN, T. DIBON, E. ROSENMAN, M. BOSS:

Experimentelle allergische Sialoadenitis

I. Akute Speicheldrüsenentzündung, hervorgerufen durch eine örtliche Immunreaktion  
Virchows Arch. Abt. A 355, 213-219, 1972

SOTO, J., A.H. AUFSES, D.A. BREILING:

The pancreas and immunoglobulins

II. Immunoglobulin levels in the pancreatic secretions of patients with chronic pancreatitis  
Amer. J. Gastroenterology 67, 561-564, 1977

SPIRITO, L., P. MOSCATELLI, A. TASSA:

Some immunologic aspects of mucoviscidosis.

Demonstration of anti gastric mucosa autoantibodies by the indirect immunofluorescence technique

Clin. Pediat. (Bologna) 50, 962-971, 1968

- STORCH, W.: Immunfluoreszenzfibel  
Leipzig 1977
- SUSKIND, R.M. (Edit.):  
Malnutrition and the immune response  
Raven Press, New York 1977
- TAKEUCHI, T., Y. NAKAGAWA, M. OGAWA, T. KAWACHI, T. SUGIMURA:  
Immunoreactivities of alpha-amylase of humans  
and rats  
Clin. chim. Acta (Amst.) 77, 203-206, 1977
- THAL, A.: Studies on pancreatitis  
II. Acute pancreatic necrosis produced experi-  
mentally by the Arthus sensitization reaction  
Surgery (St. Louis) 57, 911-917, 1955
- THAL, A., E. BRACKNEY:  
Acute hemorrhagic pancreatic necrosis produced  
by local Schwartzman reaction  
JAMA 155, 569-574, 1954
- THAL, A.P., W. EGNER, M.J. MURRAY:  
Circulating antibodies in chronic pancreatic  
disease  
Surgical Forum X. 1960
- THAL, A.P., M.J. MURRAY, W. EGNER:  
Isoantibody formation in chronic pancreatic  
disease  
Lancet I, 1128-1129, 1959
- THAL, A.P., J.F. PERRY jr., W. EGNER:  
A clinical and morphologic study of forty-two  
cases of fatal acute pancreatitis  
Surgery (Minn.) 105, 191-202, 1957
- VELBRI, S., H. NUTT, G. KASESALU:  
Über die Rolle immunologischer Mechanismen  
bei Pankreaserkrankungen  
Zschr. inn. Med., Heft 3, Jahrgang 28, 1973
- WAGNER, M.: Fluoreszierende Antikörper und ihre Anwendung  
in der Mikrobiologie  
Jena 1967
- WALTERS, M.N.-I.: Pancreatitis induced by the graft-versus-  
host reaction  
J. Path. Bact. 91, 65-69, 1966

- WITEBSKY, E.: The clinical pathology of autoimmunization  
J. Amer. J. clin. Path. 49, 301-311, 1968
- WRIGHT, P.H., R.L. GINGERICH, S. KING, P.E. LACY:  
Pancreatic lesions induced in rabbits and  
guinea pigs with pancreatic antigens  
Clin. Exp. Immunol. 25, 328-337, 1976
- ZHUKOV, N.A., et al.:  
Antigenic properties of trypsin in chronic  
pancreatitis  
Ter. Arkh. 50 (10): 89-91, 1978

### Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. V. Becker für die Bereitstellung von Arbeitsmöglichkeit und Material an seinem Institut.

Besonders möchte ich mich bei Herrn Priv. Doz. Dr. med. habil. K. Richter für das Thema dieser Arbeit, für seine intensive Betreuung und für die zahlreichen Anleitungen und Hinweise bedanken, die er mir gab.

Für die Bereitstellung der Patientenserien sei Herrn Prof. Dr. med. L. Demling und Herrn Priv. Doz. Dr. med. Riemann gedankt, für die Durchführung der Lasernephelometrie-Untersuchungen in seinem Institut Herrn Prof. Dr. med. R. Kalden.

Für die Anfertigung der graphischen Darstellungen und Tabellen bin ich Frau Egelseer, für die zahlreichen Fotoarbeiten Frau Herbig, für Hilfe bei den Literaturrecherchen Frau Bayer, für mühevollen Schreibarbeit Frau Müller und für langwierige Kopier- und Druckarbeiten Frau Keim sehr zu Dank verpflichtet.

## Lebenslauf

Am 12. Dezember 1956 wurde ich als Sohn des Kaufmannes Gerhard Weber und seiner Ehefrau Rita in Berlin geboren.

Von 1962 bis 1967 besuchte ich Volksschulen in Berlin, Weilburg, Wien, Salzburg und Bad Berneck und trat 1967 in das Humanistisch-Neusprachliche Gymnasium CHRISTIAN ERNESTINUM in Bayreuth ein, wo ich im Mai 1976 das Abitur ablegte.

Nach Ableistung meines Wehrdienstes begann ich im Wintersemester 1977/78 das Studium der Humanmedizin an der FRIEDRICH ALEXANDER-Universität Erlangen-Nürnberg.

Im Laufe des Studiums leistete ich Krankenpflege-Praktika auf internistischen und urologischen Stationen, ferner famulierte ich je einen Monat in Innerer Medizin, Chirurgie, Gynäkologie und Augenheilkunde.

Im Praktischen Jahr hatte ich in meinem Wahlfach Anästhesiologie Gelegenheit, mich näher mit diesem Fachgebiet zu beschäftigen. So entschloß ich mich, die Ausbildung zum Anästhesisten anzustreben.

Ich bin daher sehr glücklich, nach meinem Examen und der Erteilung der Approbation im April 1984 seit Juni 1984 am Institut für Anästhesiologie der Universität Erlangen als Wissenschaftlicher Mitarbeiter tätig sein zu können.





